

# ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

*Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος  
Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας*

**“ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ –ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ &  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ”**

ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ ΜΑΡΚΟΥΤΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ  
ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ ΕΝΑΝΤΙ  
ΜΕΛΙΩΝ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΟΛΥΜΠΟΥ**



ΛΑΡΙΣΑ 2018

«Μελέτη των μηχανισμών ανθεκτικότητας βακτηρίων  
κλινικής σημασίας έναντι μελιών της περιοχής  
Ολύμπου»

“Studying the methods of resistance of pathogenic  
bacteria against Olympus honey”

### **Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

**Μόσιαλος Δημήτριος (επιβλέπων) :** Επίκουρος καθηγητής Βιοτεχνολογίας Μικροβίων του τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

**Μαρκουλάτος Παναγιώτης:** Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας με έμφαση στη Βιοτεχνολογία του τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Αμούτζιας Γρηγόρης :** Επίκουρος καθηγητής Βιοπληροφορικής στη Γενωμική του τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## **Ευχαριστίες**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Μόσιαλο Δημήτρη, Επίκουρο Καθηγητή Βιοτεχνολογίας Μικροβίων του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, τόσο για την καθοδήγηση και την ουσιαστική βοήθεια που μου προσέφερε με τις επιστημονικές γνώσεις και εμπειρίες του όσο και για την υπομονή που υπέδειξε μέχρι την ολοκλήρωση της παρούσας μεταπτυχιακής μου διατριβής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Μαρκουλάτο Παναγιώτη, Καθηγητή Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας με έμφαση στη Βιοτεχνολογία, όπως και τον κ. Αμούτζια Γρηγόρη, Επίκουρο Καθηγητή Βιοπληροφορικής στη Γενωμική, που δέχτηκαν να συμμετάσχουν στην Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου και την οικογένειά μου, για την αμέριστη βοήθεια και κατανόηση που υπέδειξαν όλα αυτά τα χρόνια. Χωρίς αυτούς αρωγούς και συνοδοιπόρους δεν θα μπορούσα να πετύχω την επίτευξη των στόχων μου.

## Περίληψη

Οι επιδράσεις του μελιού στην υγεία κινούσαν ανέκαθεν το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας. Για πολλές εκατοντάδες χρόνια το μέλι χρησιμοποιούνταν για θεραπεία πληγών καθώς και για θεραπεία παθήσεων του γαστρεντερικού συστήματος. Με την έλευση όμως των αντιβιοτικών, η κλινική εφαρμογή του μελιού μειώθηκε στη δυτική ιατρική.

Παρ' όλα αυτά, τα συστατικά του στοιχεία του δίνουν ακαταμάχητες ιατρικές ιδιότητες. Η αντιμικροβιακή του δράση εμποδίζει την ανάπτυξη των βακτηρίων και άλλων παθογόνων οργανισμών. Οι αντισηπτικές του ιδιότητες βοηθούν στον καθαρισμό, την απολύμανση ή την επούλωση πληγών και εγκαυμάτων.

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η πιθανή ανθεκτικότητα κάποιων παθογόνων βακτηρίων και συγκεκριμένα ανθεκτικών στελεχών *Pseudomonas aeruginosa* και *Staphylococcus aureus* έναντι της αντιβακτηριακής δράσης μελιών Ολύμπου συγκρινόμενα με το μέλι Manuka. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (minimum inhibitory concentration MIC), με την οποία έγινε διερεύνηση της ανθεκτικότητας βακτηρίων κλινικής σημασίας έναντι δειγμάτων μελιού, με βραχυπρόθεσμη έκθεση υπό σταθερές συγκεντρώσεις μελιού και με σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις μελιού για 12 συνεχόμενες ημέρες και στις δύο περιπτώσεις. Κατόπιν, έγινε διερεύνηση της παροδικής ή μόνιμης φύσης της ανθεκτικότητας των κλινικών στελεχών *S.aureus* και *P.aeruginosa* έναντι συγκεκριμένων μελιών, μετά το τέλος της έκθεσής τους για 12 συνεχείς ημέρες, χρησιμοποιώντας τα βακτήρια που εκτέθηκαν στο μέλι για ανακαλλιέργεια 10 ημερών απουσία μελιού.

Οι μέθοδοι αυτοί βασίζονται στην ικανότητα των μελιών να αναστέλλουν την ανάπτυξη των βακτηρίων και αυτό που παρατηρήθηκε είναι ότι η έκθεση των βακτηρίων στο μέλι οδήγησε σε τρεις κατηγορίες αποτελεσμάτων. Στην πρώτη κατηγορία δεν υπήρξε κάποια ένδειξη ανθεκτικότητας των βακτηρίων ως προς το μέλι No 5, No 21 και το μέλι Manuka. Στη δεύτερη κατηγορία παρατηρήθηκε μόνιμη ανθεκτικότητα των βακτηρίων στα μέλια με No 7 και No 10. Ενώ στην τρίτη κατηγορία παρατηρήθηκε παροδική ανθεκτικότητα στα μέλια με No 2 και No 8 καθώς υπήρξε κάποια αύξηση της τιμής MIC σε σχέση με την αρχική, η οποία όμως επανήλθε στα αρχικά επίπεδα μετά το τέλος της ανακαλλιέργειας των 10 ημερών απουσία μελιού.

## Abstract

The contribution of honey to health has gathered the attention of the medical world. The honey has been used for healing wounds and for treating infections for decades. However the presence of antibiotics has reduced the clinical application of honey in western medicine.

Nevertheless, its ingredients gives it incredible medical characteristics. Its antimicrobial activity prevents the pathogenic bacterial growth. Its antiseptic characteristics helps in healing wounds and burns.

The current study has investigated possible resistance of certain pathogenic bacteria, specific *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* against the antibacterial action of Olympus honeys, in comparison to *Manuka* honey. The method for determining the minimum inhibitory concentration(MIC) has explored the bacterial resistance of clinical importance compared to samples of honey with short term exposure in stable concentrations of honey and gradually increasing concentrations in honey for 12 consecutive days on both occasions. Then there was investigation of transient or permanent of resistance of clinical *P.aeruginosa* and *S.aureus* against specific honeys after their exposure during 12 consecutive days using the bacteria which were exposed to the honey for a ten-day regrowth, without any honey.

The methods are based on the ability of the honey to postpone the bacteria growth. What has been observed is that the exposure of the bacteria to honey has led to three categories of results. In the first category, there was no indication of resistance of bacteria to the honey No 5, 21 and Manuka. In the second category, there was a permanent resistance of the bacterium in honey No 7 and 10. Finally, in the third category was observed transient resistance of the bacteria in honey No 2 and 8 as there was price increasing MIC in relation to the original. However, this price returned to initials levels after the end of 10 days reculture in the absence of honey.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	5
Abstract	6
<b>1.Εισαγωγή</b>	<b>9</b>
1.1.Ιστορική αναδρομή –Ορισμός	9
1.1.1.Συστατικά του μελιού	13
1.1.2.Διατροφική και θεραπευτική αξία του μελιού	14
1.1.3.Θερμιδική αξία του μελιού	16
1.2. Η μελισσοκομία στη χώρα μας και στην Ευρώπη των 28	16
1.3. Τα είδη του μελιού	19
1.4. Τύποι ελληνικού μελιού	20
1.4.1. <i>Πεύκο-Pinus halepensis</i>	20
1.4.2. <i>Ελατο-Abies sp.</i> ,	23
1.4.3. <i>Καστανιά-Castanea sativa</i>	26
1.4.4. <i>Θυμάρι-Thymus sp.</i> ,	28
1.4.5. <i>Ερείκη-Erica</i>	31
1.4.6. <i>Ηλίανθος-Helianthus annuus</i>	34
1.4.7. <i>Βαμβάκι-Gossypium hirsutum</i>	36
1.4.8. <i>Εσπεριδοειδή-Πορτοκαλιά –Citrus aurantium</i>	38
1.5.Μέλι Manuka	40
1.6.Αντιμικροβιακή δράση του μελιού	41
1.7. <i>Staphylococcus aureus</i>	46
1.8. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
<b>2.Σκοπός της παρούσας μελέτης</b>	<b>50</b>
<b>3.Πειραματικό μέρος</b>	<b>51</b>

3.1.Υλικά	51
3.1.1.Δείγματα μελιών	51
3.2.Μέθοδοι	52
3.2.1.Υγρές καλλιέργειες των <i>S.aureus</i> και <i>P.aeruginosa</i>	52
3.2.2.Μέθοδος προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης	53
3.2.2.1.Αρχή της μεθόδου	53
3.2.2.2.Πειραματική διαδικασία	54
3.2.3.Διερεύνηση της ανθεκτικότητας βακτηρίων κλινικής σημασίας έναντι δειγμάτων μελιού, με βραχυπρόθεσμη έκθεση υπό σταθερές συγκεντρώσεις μελιού	55
3.2.3.1.Αρχή της μεθόδου	55
3.2.3.2.Πειραματική διαδικασία	56
3.2.4.Διερεύνηση της ανθεκτικότητας βακτηρίων κλινικής σημασίας έναντι δειγμάτων μελιού, με βραχυπρόθεσμη έκθεση σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις μελιού	57
3.2.4.1.Αρχή της μεθόδου	57
3.2.4.2.Πειραματική διαδικασία	57
<b>4.Αποτελέσματα</b>	<b>59</b>
4.1.Προσδιορισμός της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης(MIC)	59
4.2.Προσδιορισμός της ανθεκτικότητας βακτηρίων κλινικής σημασίας έναντι δειγμάτων μελιού, με βραχυπρόθεσμη έκθεση υπό σταθερές συγκεντρώσεις μελιού	60
4.3.Προσδιορισμός της ανθεκτικότητας βακτηρίων κλινικής σημασίας έναντι δειγμάτων μελιού, με βραχυπρόθεσμη έκθεση σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις μελιού	62
<b>5.Συζήτηση</b>	<b>65</b>
<b>6.Βιβλιογραφία</b>	<b>68</b>



# ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1. Ιστορική αναδρομή-Ορισμός

Πολύ λίγα βασικά προϊόντα, στη διατροφή του ανθρώπου, όπως το μέλι, απολαμβάνουν μιας τόσο καθολικής παγκόσμιας δημοτικότητας, άρρηκτα συνδεδεμένης με τις ιδιαιτερότητες και τις παραδόσεις κάθε περιοχής.

Το μέλι είναι μια ρευστή σακχαρούχος ουσία με ιδιαίτερο άρωμα, η οποία προέρχεται από το νέκταρ φυτών, βοτάνων, λουλουδιών και ανθέων που απορροφούν οι μέλισσες. Με μια θαυμαστή διεργασία τα εμπλουτίζουν και τα μετουσιώνουν σε μέλι. (Κουτή Μ. Κατημερτζόγλου Ι., 2010).

Σύμφωνα με τον ορισμό του Διεθνούς Οργανισμού Γεωργίας και Τροφίμων (F.A.O.) «μέλι είναι το γλυκό προϊόν το οποίο παράγουν οι μέλισσες (του γένους *Apis*), αφού συλλέξουν, μετατρέψουν και αποθηκεύσουν στις κηρήθρες τους το νέκταρ και άλλους φυσικούς χυμούς από διάφορα ζωντανά μέρη του φυτού».

Ήδη από την αρχαιότητα και κυρίως οι προγονοί μας γνώριζαν πάρα πολύ καλά τη θεραπευτική αξία και του απέδιδαν μάλιστα ιδιότητες θεϊκές, θρησκευτικής ευλάβειας.



Εικόνα 1: Μέλι <http://15minutes.gr>

Το μέλι θεωρείτο η τροφή των Ολύμπιων Θεών (αμβροσία).

Η θεά Ήρα προσέφερε μέλι στους θεούς του Ολύμπου για να μη γεράσουν.

Οι θνητοί προσέφεραν μελόπιτα στο θεό Άδη για να τους χαρίσει υγεία και ευεξία.

Ο πατέρας της Ιατρικής, Ιπποκράτης, στα συγγράματά του τονίζει τη διατροφική και φαρμακολογική αξία του μελιού.

Ο Διογένης έγραφε ότι οι ηλικιωμένοι που τρώνε μόνο μέλι και ψωμί ζουν πάρα πολλά χρόνια.

Ο Δημόκριτος από τα Άβδηρα έζησε 109 χρόνια γιατί όπως έλεγε: «Μέλι μέσα, λάδι από έξω».

Οι Πυθαγόρειοι που θεωρούνταν χορτοφάγοι, πιστεύοντας πως τους χάριζε ανοσία, έφτασαν σε μεγάλη ηλικία γιατί τρέφονταν αποκλειστικά με μέλι που το άλειφαν στο ψωμί.

Ο Όμηρος στην Οδύσσεια κάνει αναφορά στο «Μελίκρατον», κράμα μελιού και γάλακτος το οποίο έπιναν ως εκλεκτό ποτό αλλά και για τις ορφανές κόρες του Πινδάρου οι οποίες τρέφονταν από τη θεά Αφροδίτη με τυρί, μέλι και οίνον. Με την ίδια τροφή η μάγισσα Κίρκη σαγήνευσε τους συντρόφους του Οδυσσέα.

Αναφορές επίσης γίνονται στον Ησίοδο, τον Πλούταρχο και τον Αριστοτέλη, ο οποίος ήταν και ο πρώτος που ασχολήθηκε επιστημονικά με τις μέλισσες γύρω στο 300 π. Χ. στην «Ιστορία των Ζώων».(Κουτή Μ,Κατημερτζόγλου Ι.,2010).

Την εποχή εκείνη ο Υμηττός ήταν το ιερό βουνό των μελισσοουργών και το θυμαρίσιο μέλι του ήταν γνωστό πέρα από τα σύνορα της Ελλάδας.(Κοντόλαιμος, 2003).

Οι Αρχαίοι Έλληνες συνήθιζαν να χρησιμοποιούν το μέλι σαν γλυκαντική ουσία, μιας και δεν υπήρχε η ζάχαρη, για την παρασκευή πλακούντων(γλυκίσματα με πολλά αρτύματα μέλι, ξηρούς καρπούς και μυρωδικά), που ήταν δημιουργήματα των πλακουντοποιών.(Μίχα-Λαμπάκη.,2003).

Επίσης το χρησιμοποιούσαν για την παρασκευή επιδορπίων (τραγήματα) τα οποία έτρωγαν μετά το δείπνο. Τα τραγήματα ήταν φτιαγμένα από φρέσκα ή ξερά φρούτα, κυρίως σύκα, καρύδια και σταφύλια ή γλυκά με μέλι. Επίσης έφτιαχναν μελόπιτες και άλλα γλυκίσματα.

Το έπιναν επίσης αναμειγμένο με νερό, γνωστό ως υδρομέλι. Ακόμη γίνεται αναφορά και για το «μελωμένο κρασί», που αναγράφεται σε ένα από τα κείμενα της Πύλου, ενώ το κοκτέιλ του Νέστορος περιελάμβανε, εκτός των άλλων, λιωμένο τυρί, κριθάρι, μέλι καθώς και κρασί.(McGovern.,2005).

Στη χριστιανική θρησκεία, οι μέλισσες που έκαναν το κερί για τον άγιο (βασικό προϊόν της μελισσοκομίας) ήταν σοφές.

Η παράδοση αναφέρει πως όταν πέθανε ο Μέγας Αλέξανδρος τον τοποθέτησαν σε μέλι για να διατηρηθεί πολύ καιρό.

Η Κλεοπάτρα, η βασίλισσα της Αιγύπτου, χρησιμοποιούσε το μέλι για την περιποίησης της.

Στην αρχαιότητα πριν μουν στο στίβο οι αθλητές, έτρωγαν μέλι γιατί το θεωρούσαν αναζωογονητικό του οργανισμού. Αλλά και σήμερα αποτελεί βασικό στοιχείο της διατροφής των αθλητών.(Κουτή Μ.,Κατημερτζόγλου Ι.,2010).

Έναν επιτυχημένο ορισμό για το μέλι έχει διατυπώσει ο E.E.Phillips το 1930 το μέλι είναι ένα αρωματικό, γλοιώδες, γλυκό υλικό που προέρχεται από το νέκταρ των φυτών, το οποίο μαζεύουν οι μέλισσες και το μεταβάλλουν για την τροφή τους σε ένα πυκνότερο υγρό και τελικά το αποθηκεύουν στις κηρήθρες τους.Είναι όξινης αντίδρασης, ρευστό στην αρχική μορφή του, αλλά μεταβάλλεται σε κρυσταλλικό όταν μείνει πολύ καιρό. Αποτελείται κυρίως από δύο σάκχαρα, τη γλυκόζη (δεξτρόζη) και τη φρουκτόζη (λεβουλόζη), με παρουσία κατά περιπτώσεις πιο σύνθετων υδατανθράκων, με επικρατέστερη συνήθως τη λεβουλόζη και περιέχει ανόργανες ουσίες, φυτικά χρωστικά υλικά, μερικά ένζυμα και κόκκους γύρης.

Σύμφωνα με την Κοινοτική Νομοθεσία(Οδηγία 2001/110/EK του Ευρωπαϊκού Συμβουλίου), μέλι είναι η φυσική γλυκιά ουσία που παράγουν οι μέλισσες του είδους *Apis mellifera* από το νέκταρ των φυτών ή από εκκρίσεις ζώων μερών φυτών ή εκκρίματα εντόμων απομυζούντων φυτά ευρισκόμενα πάνω στα ζώντα μέρη των φυτών, τα οποία οι μέλισσες συλλέγουν, μετατρέπουν αναμειγνύοντας με ειδικές ύλες του σώματός τους, αποθέτουν, αφυδατώνουν, εναποθηκεύουν και φυλάσσουν στις κηρήθρες της κυψέλης, προκειμένου να ωριμάσουν.

Η πρώτη ύλη λοιπόν του μελιού είναι το νέκταρ από το οποίο παράγεται το ανθόμελο και το μελίτωμα. Το νέκταρ το παίρνουν οι μέλισσες από τα άνθη ενώ το μελίτωμα προέρχεται από τα παράσιτα των φυτών. Τα παράσιτα απορροφούν το χυμό, ο οποίος περνά από το πεπτικό τους σύστημα όπου και σχηματίζεται το μελίτωμα, το οποίο χρησιμοποιούν για τις ανάγκες τους. Αυτό που περισσεύει βγαίνει με τη μορφή σταγονιδίων, που οι μέλισσες απομυζούν από το σώμα των παρασίτων ή από τα φύλλα των φυτών όπου πέφτει το μελίτωμα.(Δερματόπουλος.,1949).

Οι συλλέκτριες προσθέτουν στο νέκταρ και στο μελίτωμα σάλιο και το μεταφέρουν στις κυψέλες. Η διαδικασία της μετατροπής του νέκταρος σε μέλι αρχίζει

μέσα στον **πρόλοβο** της μέλισσας, με την προσθήκη ενζύμων από τους σιελογόνους και υποφαρυγγικούς αδένες. Οι υποφαρυγγικοί αδένες βρίσκονται στο πάνω μέρος του κεφαλιού της μέλισσας και είναι δύο λεπτοί και μακροί αγωγοί με πολλές διακλαδώσεις. Είναι πολύ αναπτυγμένοι στη νεαρή εργάτρια και παράγουν το **βασιλικό πολτό**, τροφή πλούσια σε βιταμίνες και πρωτεΐνες για την εκτροφή του γόνου και της βασίλισσας. Στις μεγαλύτερης ηλικίας εργάτριες συρρικνώνονται και παράγουν το ένζυμο οξειδάση της γλυκόζης, που μετατρέπει τη γλυκόζη σε γλυκονικό οξύ.(Θρασυβούλου.,2001).

Η κυρίαρχη χημική μετατροπή (μεταβολισμός) του φυτικού χυμού, όταν αυτός γίνεται μέλι είναι η αποδόμηση του δισακχαρίτη **σουκρόζη** (της κοινής ζάχαρης) στα άμεσα αφομοιώσιμα μονοσάκχαρα της γλυκόζης και φρουκτόζης. Η ανασύνθεση δισακχαριτών και τρισακχαριτών είναι ποσοτικά πολύ περιορισμένη. Οι αρωματικές (διάφορα τερπένια) και οι χρωστικές ουσίες του φυτικού χυμού δεν μεταβολίζονται. Το μέλι απλά εμπλουτίζεται με ένζυμα από τους αδένες της εργάτριας μέλισσας, τα οποία μεταβολίζουν τα σάκχαρα. Τέλος, τα διάφορα μεταλλικά στοιχεία του μελιού είναι ακριβώς τα ίδια με αυτά τα οποία περιέχονται και στον πρωτογενή φυτικό χυμό.(Zanber & Maurizio.,1984,White.,1993).

Ο μεταβολισμός των σακχάρων του νέκταρος και του μελιτώματος συνεχίζεται και ολοκληρώνεται μέσα στα κελιά των κηρήθρων, από την ώρα που οι φυτικοί χυμοί αποθηκεύονται μέσα σε αυτές. Η ικανότητα των κοινωνικών μελισσών ως ειδών εντόμων να μετατρέπουν το ευαίσθητο σε ζυμώσεις (αλλοιώσεις) νέκταρ και αντίστοιχα μελίτωμα στο εξαιρετικά συντηρήσιμο μέλι, αποτελεί για αυτές έναν από τους βασικούς μηχανισμούς τους στη φύση, ο οποίος διασφαλίζει την επιβίωσή τους.(Υφαντίδης.,2005).

Τέλος, η σύνθεση του μελιού εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως:

- Τα είδη των φυτών από όπου συλλέγουν το μέλι και το μελίτωμα.
- Τη φύση του εδάφους.
- Το είδος των μελισσών.
- Τη φυσική κατάσταση του μελισσιού.(Υφαντίδης.,1983).

### 1.1.1. Συστατικά του μελιού.

Η σύσταση του μελιού είναι από τις σημαντικότερες παραμέτρους που συμβάλλουν στον ορισμό της ταυτότητας ενός μελιού. Όσο καλύτερα γνωρίζουμε τη σύσταση ενός μελιού, τόσο ευκολότερα μπορούμε να εξάγουμε συμπεράσματα για τα οργανοληπτικά, τα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά του και την ακριβή προέλευσή του και να το εντάξουμε στη σωστή ποιοτική ομάδα.(Θρασυβούλου και συνεργάτες, 2002).

**Πίνακας 1:** Μέση σύσταση του Ελληνικού μελιού με βάση 144 δείγματα από μέλια ανθέων και 30 μελιτωμάτων.(Thrasyvoulou and Manikis.,1995).

Συστατικό	Μέλι ανθέων		Μέλι από μελιτώματα	
	Μέση τιμή	Διακύμανση	Μέση τιμή	Διακύμανση
Υγρασία (%)	17,2	14,9-23,0	15,9	13,0-18,9
Φρουκτόζη (%)	38,52	28,0-46,1	28,35	22,2-33,9
Γλυκόζη (%)	31,98	23,4-39,2	22,5	13,4-31,9
Σουκρόζη (%)	3,29	0,0-7,0	3,68	0,01-12,0
Μαλτόζη (%)	-	-	6,24	0,5-11,2
pH	4,0	3,3-5,4	4,9	4,5-5,9
Αγωγιμότητα (mS/cm)	0,64	0,15-2,06	1,33	1,01-1,69
Τέφρα (%)	0,32	0,1-1,2	0,75	0,4-1,1
HMF (mg/Kg)	5,1	0,0-11,9	2,4	0,0-8,2
Διαστάση (DU)	22,92	8,6-51,0	23,45	10,4-37,2
Προλίνη (mg/Kg)	550	264-1205	452	290-673

Το μέλι αποτελείται κατά 83% περίπου από σάκχαρα. Τα σάκχαρα είναι οργανικές ενώσεις μικρού μέχρι μεγάλου μοριακού βάρους, που παρέχουν σημαντικό ποσοστό της ενέργειας που χρειάζονται οι ζωντανοί οργανισμοί για την εκτέλεση ζωτικών λειτουργιών, ενώ αποτελούν δομικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών και των κυττάρων σε ζωικούς και φυτικούς οργανισμούς. Σε αναλύσεις μέλι, έχουν βρεθεί τουλάχιστον 22 διαφορετικά σάκχαρα.

Τα σάκχαρα που συναντάμε σε πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις στο μέλι είναι οι μονοσακχαρίτες φρουκτόζη και γλυκόζη, σάκχαρα που δεν υπάρχουν στο νέκταρ ή τα μελιτώματα των φυτών, αλλά προέρχονται από την ιμβερτοποίηση(υδρόλυση) στον πρόλοβο των μελισσών. Κατά τη διαδικασία παραγωγής του μελιού, οι μέλισσες παράγουν το ένζυμο ιμβερτάση (invertase) από τους υποφαρυγγικούς τους αδένες, το οποίο διασπά τη σουκρόζη σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Λόγω της υψηλότερης διαλυτότητας της γλυκόζης από τη σουκρόζη στη θερμοκρασία κυψέλης, παράγεται ένα διάλυμα σακχάρων μεγαλύτερης συγκέντρωσης σε φρουκτόζη.(Crane.,1990). Η μέση σύσταση των σακχάρων σε ένα μέλι διαφέρει ανάλογα με το αν αυτό είναι ανθόμελο, ή είναι μέλι από μελιτώματα.(Thrasyvoulou and Manikis.,1995).

**Πίνακας 2:** Οι κύριοι υδατάνθρακες του μελιού.

<i>Υδατάνθρακες</i>	<i>Μέση περιεκτικότητα (%)</i>	<i>Διακύμανση (%)</i>
<b>Φρουκτόζη</b>	39,3	21,7-53,9
<b>Γλυκόζη</b>	32,9	20,4-44,4
<b>Φρουκτόζη/Γλυκόζη</b>	1,19	1,06-1,21
<b>Σουκρόζη</b>	2,3	2,7-16
<b>Μαλτόζη και άλλοι ολιγοσακχαρίτες</b>	7,3	
<b>Άλλα ανώτερα σάκχαρα</b>	1,5	
<b>Σύνολο</b>	83,3	

Το μέλι περιέχει επίσης 20 περίπου οργανικά οξέα σε ποσοστό 18%, νερό σε ποσοστό 16%, πρωτεΐνες και αμινοξέα, μεταλλικά στοιχεία σε μικρές ποσότητες (κάλιο, ασβέστιο, μαγνήσιο, σίδηρος, κ.ά.), ένζυμα(τα οποία σχεδόν στο σύνολό τους από τους αδένες των μελισσών) και είναι αυτά που μετατρέπουν το νέκταρ και το μελίτωμα των φυτών σε μέλι, συμπλέγματα πρωτεϊνών, βιταμίνες (B2, B6, C,D,E, παντοθενικό οξύ, φολικό οξύ κ. ά.), φυσικές αρωματικές ουσίες κ.ά.

### **1.1.2. Διατροφική και θεραπευτική αξία του μελιού**

Το μέλι περιέχει πολλές ουσίες με αντιοξειδωτική δράση, όπως φλαβονοειδή και άλλα φαινολικά συστατικά, πεπτίδια, ένζυμα(π.χ. καταλάση), οργανικά οξέα, μέταλλα και ιχνοστοιχεία. Η αντιοξειδωτική δράση του κάθε μελιού ποικίλει πολύ

και εξαρτάται από τα επιμέρους συστατικά του. Σε γενικές γραμμές τα σκουρόχρωμα μέλια έχουν ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση, όντας πλουσιότερα σε φαινολικές ουσίες και μέταλλα. Εξάλλου η αντιοξειδωτική δράση των μελιών συνδέεται στενά με το περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά και το χρώμα του μελιού.(Crane.,1990).

Τα σάκχαρα του μελιού απορροφούνται αμέσως, γι' αυτό και το μέλι είναι μια γρήγορη πηγή ενέργειας για τον οργανισμό, για τους αθλητές, τα παιδιά, τις εγκύους, τους αρρώστους και για κάθε ταλαιπωρημένο οργανισμό.

Το μέλι έχει ανόργανα στοιχεία, γνωστά σαν ιχνοστοιχεία, τα οποία παίζουν σπουδαίο ρόλο στο μεταβολισμό και στη θρέψη, είναι συστατικά του σκελετού και των κυττάρων, συμμετέχουν σε διάφορα ενζυμικά συστήματα και τέλος ρυθμίζουν την οξύτητα του στομάχου.

Η συγκέντρωση των βιταμινών που έχει το μέλι δεν είναι αρκετή για τις ημερήσιες ανάγκες μας, βοηθούν όμως για την απορρόφηση των σακχάρων.

Το μέλι έχει αντισηπτικές ιδιότητες, είναι τονωτικό, αυξάνει το ρυθμό λειτουργίας της καρδιάς, μειώνει προβλήματα έλκους στο στομάχι και γενικά συμβάλλει στην καλή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού.

Η κατανάλωση μελιού βοηθάει στη γρηγορότερη αποκατάσταση της υγείας σε περιπτώσεις αναιμίας, λόγω του σιδήρου που περιέχει.

Το μέλι βοηθά σημαντικά στον ταχύτερο μεταβολισμό του οίνοπνεύματος, με αποτέλεσμα να απαλλάσσεται κανείς γρηγορότερα από την κατάσταση μέθης.

Επίσης έχει υψηλή περιεκτικότητα σε χολίνη που βοηθά ιδιαίτερα άτομα που λόγω της καθιστικής εργασίας υποφέρουν από δυσκοιλιότητα.

Επιπλέον έχει αντιμικροβιακή δράση και εμποδίζει την ανάπτυξη των βακτηρίων και άλλων παθογόνων οργανισμών, είναι χρήσιμο για την επούλωση και τον καθαρισμό ή την απολύμανση πληγών.(Thrasynoulou and Manikis.,2001).

Αποδείχτηκε επίσης ως ένα πολύ ωφέλιμο προϊόν για τη διαίτα του παιδικού οργανισμού. Σε έρευνες διαπιστώθηκε ότι η διατροφή με μέλι αύξησε την αιμοσφαιρίνη του αίματος των παιδιών και αύξησε το βάρος τους χωρίς να παρατηρηθεί παράλληλη αύξηση του σακχάρου στο αίμα ή της οξύτητας στο ουρικό οξύ. Η πληθώρα των ιχνοστοιχείων του μελιού πιθανώς συμπληρώνει ελλείψεις της διαίτας σε άτομα που δεν τρέφονται καλά καθώς και σε ηλικιωμένα άτομα. Τέλος πολλοί αποδίδουν τη μακροζωία τους στη συστηματική διατροφή τους με μέλι.(Μπίκος.,1991).

Σύμφωνα με τον Herold.,1970 το μέλι έχει τις ακόλουθες ευεργετικές δράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό:

- Το μέλι ως δυναμωτικό
- Επιδράσεις στην καρδιά
- Επιδράσεις στο ήπαρ
- Επιδράσεις στο πεπτικό σύστημα
- Επούλωση τραυμάτων
- Αντιφλεγμονώδης δράση
- Αντιοξειδωτική δράση
- Υποβοήθηση του ανοσοποιητικού συστήματος.

### 1.1.3. Θερμιδική αξία του μελιού

Το μέλι έχει κατά μέσο όρο 304kcal/100g. Η θερμιδική αξία σχετίζεται άμεσα με τη βοτανική του προέλευση και καθορίζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η περιεκτικότητα σε σάκχαρα και οι επιμέρους αναλογίες αυτών, η περιεκτικότητα σε υγρασία, η παρουσία μεγαλομορίων κ.λ.π.

**Πίνακας: 3** Θερμιδικό περιεχόμενο του μελιού(Γούναρη, 2004).

Είδος μελιού	Θερμίδες (Kcal/Kg)
Πεύκου	3.080
Ελάτου	3.422
Θυμαριού	3.515
Βαμβακιού	3.300
Πορτοκαλιάς	3.299
Ηλίανθου	3.755
Ερείκης	3.521

## 1.2. Η μελισσοκομία στη Χώρα μας και στην Ευρώπη των 28.

Η μελισσοκομία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους κλάδους της πρωτογενούς παραγωγής για τη χώρα μας. Σύμφωνα με στοιχεία του ΥΠΑΑΤ, στον κλάδο της μελισσοκομίας απασχολούνται περί τους 23.000 μελισσοκόμους, οι οποίοι κατέχουν περίπου 1.380.000 κυψέλες. Περίπου 5.000 από αυτούς



κατέχουν πάνω από 150 κυψέλες και θεωρούνται επαγγελματίες. Η χώρα μας είναι δεύτερη στην Ε.Ε., μετά την Ισπανία, από άποψη κατοχής μελισσοσμηνών και παράγει κατά μέσο όρο 14.000 τόννους ετησίως. Η εγχώρια παραγωγή καλύπτει περίπου το 90% της κατανάλωσης.

**Πίνακας 4:** Κράτος-Μέλος(Μελισσοκομικό κεφάλαιο,αριθμός κυψελών).

A/A	Κράτος – Μέλος	Μελισσοκομικό Κεφάλαιο (αριθμός κυψελών)
1.	Ισπανία	2.397.840
2.	Ελλάδα	1.380.000
3.	Γαλλία	1.150.000
4.	Ιταλία	1.100.000
5.	Γερμανία	893.000
6.	Πορτογαλία	590.000
7.	Αυστρία	336.139
8.	Ηνωμένο Βασίλειο	274.000
9.	Δανία	155.000
10.	Σουηδία	145.000
11.	Βέλγιο	100.000
12.	Κάτω Χώρες	80.000
13.	Φινλανδία	47.000
14.	Ιρλανδία	20.000
15.	Λουξεμβούργο	10.213
	<b>Σύνολο:</b>	<b>8.678.192</b>

Από πλευράς γεωγραφικής κατανομής, η μελισσοκομία είναι διαδεδομένη σε όλη τη χώρα. Υπάρχουν όμως περιοχές που έχουν αυξημένο μελισσοκομικό ενδιαφέρον, όπως εκείνες των Νομών Χαλκιδικής Καβάλας, Φθιώτιδας, Ευβοίας, Αττικής, Αρκαδίας, Ηρακλείου, Χανίων και άλλες.

**Πίνακας 5:** Κατανομή μελισσοκομικών μονάδων(ΥΠΑΑΤ).

Γεωγραφικό διαμέρισμα	Μελισσοκομικές μονάδες (Αριθμός)	Ποσοστό %	Μελίσσια (Αριθμός)	Ποσοστό %	Παραγωγή	Ποσοστό %
					μελιού (Κιλά)	
Μακεδονία	4.010	20,0	463.905	34,4	4.820.647	36,3
Πελοπόννησος	3.521	18,0	158.833	12,5	1.521.042	11,7
Κρήτη	2.880	14,0	109.070	8,6	868.694	6,5
Στερεά & Εύβοια	2.742	14,0	201.110	15,8	2.086.603	15,7
Ν. Αιγαίο	2.407	12,0	112.006	8,8	1.388.687	10,4
Θράκη	1.154	6,0	44.681	3,5	531.289	4,0
Ηπειρος	1.119	6,0	38.928	3,0	499.120	3,7
Θεσσαλία	1.102	5,0	82.247	6,4	699.507	5,2
Αττική	631	3,0	49.860	3,9	762.840	5,7
Ν. Ιονίου	349	2,0	13.496	1,0	107.000	0,8

Στο παραγόμενο μέλι από νέκταρ συγκαταλέγονται τα διάφορα ανθόμελα (καστανιάς, θυμαριού, πορτοκαλιάς, βαμβακιού, ηλίανθου, ερείκης κ.ά.) ενώ στο μέλι από μελιτώματα ανήκουν τα μέλια *πεύκου*, *ελάτου*, *βελανιδιάς* κ.ά. Οι μεγαλύτερες ποσότητες προέρχονται από το *πεύκο*(60-65%), το *έλατο*(10%) και το *θυμάρι*(15%). Δεν υπάρχουν ακριβή στοιχεία για την παραγωγή άλλων προϊόντων, όπως γύρης, βασιλικού πολτού, πρόπολης και κεριού. (ΥΠΑΑΤ) (Θρασυβούλου., 1998).

Η παραγωγή του μελιού και η παραγωγικότητα του μελισσιού και μιας μελισσοκομικής εκμετάλλευσης στο σύνολό της, κατ' επέκταση, εξαρτάται και συναρτάται από πολλούς παράγοντες. Ο καιρός, η χλωρίδα, η υγεία και η δυναμικότητα των μελισσιών αλλά και η τέχνη του μελισσοκόμου είναι από τα βασικότερα. Όσον αφορά στις, λόγω επιρροής των ανωτέρω, διαμορφούμενες

παραγωγές, κυμαίνονται από 0-100 kg ανά κυψέλη. Η μέση ανθρώπινη κατανάλωση στην Ελλάδα ανέρχεται σε 1,5kg/κεφαλή.(Θρασυβούλου.,1998).

### 1.3. Τα είδη του μελιού

Η οδηγία 2001/110/E.K. αναφέρει πως τα είδη του μελιού που αναγνωρίζονται από την Ε.Ε. είναι τα ακόλουθα ανάλογα με τη βοτανική τους προέλευση:

- Μέλι ανθέων ή μέλι νέκταρος: είναι το μέλι που συλλέγεται από το νέκταρ ανθέων, όπως πορτοκαλιάς, θυμαριού, ευκαλύπτου, δεντρολίβανου, λεβάντας, λυγαριάς, ακακίας κ.ά.
- Μέλι μελιτώματος: είναι το μέλι που λαμβάνεται κυρίως από εκκρίματα εντόμων απομυζούντων ευρισκόμενα πάνω στα ζώντα μέρη φυτών, όπως το μέλι πεύκου και του ελάτου.(Θρασυβούλου και Μανίκης.,1990).

Θεωρητικά οι μέλισσες παράγουν τόσα μέλια όσα είναι και τα φυτά που δίνουν νέκταρ και μελίτωμα. Πρακτικά όμως δεν έχουμε τόσα πολλά μέλια διότι οι ποσότητες που παράγουν δεν είναι μεγάλες. Κάθε περιοχή παράγει τα δικά της μέλια ανάλογα με την ανθοφορία της. Όταν σε μια περιοχή δεν υπάρχει μια επικρατούσα ανθοφορία, το μέλι που θα παραχθεί θα είναι μέλι ποικίλης ανθοφορίας, ενώ όταν υπάρχει μια επικρατούσα ανθοφορία τότε το μέλι θα πάρει τα χαρακτηριστικά της(γεύση, άρωμα, χρώμα) και θα ονομαστεί ανάλογα π.χ. μέλι θυμαριού.( Θρασυβούλου.,2001).

Το χρώμα του μελιού ποικίλει από σχεδόν άχρωμο έως καφέ σκούρο. Ως προς τη σύσταση, μπορεί να είναι ρευστό, παχύρευστο ή μη, μερικώς ή ολικώς κρυσταλλωμένο. Η κρυστάλλωση του μελιού είναι πολύπλοκο φαινόμενο. Αρχικά οφείλεται στη διαφορετική σχέση φρουκτόζης και γλυκόζης αλλά η θέρμανση σε χαμηλές θερμοκρασίες επαναφέρει το μέλι στη ρευστή του κατάσταση κι έτσι εικάζεται ότι μπορεί να προκαλείται και από ένζυμα. Όταν όμως το μέλι διατηρείται για κάποιο χρονικό διάστημα τότε η κρυστάλλωση επανεμφανίζεται. Το κρυσταλλωμένο μέλι δεν έχει χάσει τίποτα από τη θρεπτική του αξία και πρέπει να καταναλώνεται όπως είναι διότι η θέρμανσή του για να λιώσει και να αποκτήσει την αρχική του ωραία

φυσική κατάσταση οπωσδήποτε μετουσιώνει ορισμένα από τα θρεπτικά του συστατικά.(Ζερφυρίδης.,1998).

#### **1.4. Τύποι ελληνικού μελιού**

Το μέλι είναι ένα μοναδικό στο είδος του προϊόν, πλούσιο σε θρεπτικά στοιχεία, άρωμα και γεύση. Υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ανθόμελων και των μελιών των κωνοφόρων δέντρων. Το ανθόμελο είναι ανοιχτόχρωμο, λεπτόρρευστο και αρωματικό και με την πάροδο του χρόνου σε χαμηλές θερμοκρασίες γίνεται παχύρρευστο, κρυσταλλώνει και με τον καιρό στερεοποιείται. Ακόμη περιέχει μεγαλύτερο ποσοστό γλυκόζης και φρουκτόζης(μεγαλύτερο του 65%) και μπορεί να περιέχει υπολείμματα γύρης. Από την άλλη το πευκόμελο είναι σκουρόχρωμο, παχύρρευστο και κρυσταλλώνει λιγότερο. Έχει μικρότερο ποσοστό σακχάρων(38%) αλλά είναι πλούσιο σε μεταλλικά άλατα.(Υφαντίδης.,1983).

Με τον όρο ταυτότητα του μελιού, εννοούμε το σύνολο των φυσικοχημικών, οργανοληπτικών και μικροσκοπικών χαρακτηριστικών που ορίζουν μια συγκεκριμένη κατηγορία αμιγούς μελιού. Ως αμιγές ορίζεται το μέλι εκείνο που με βάση τα χαρακτηριστικά του, κατατάσσεται σε μια κατηγορία μελιού συγκεκριμένης φυτικής προέλευσης.(Θρασυβούλου και συνεργάτες.,2002).

##### **1.4.1. Πεύκο-*Pinus halepensis* (κοινό πεύκο)**

Το 65% περίπου της συνολικής παραγωγής του μελιού στην Ελλάδα, είναι πευκόμελο. Το μέλι προέρχεται από τις μελιτώδεις εκκρίσεις του εντόμου *Marchalina hellenica* γνωστό ως «βαμβακάδα», «εργάτης», «μικρόβιο» ή «παράσιτο» του πεύκου. Ο «εργάτης» βρίσκεται σε αρκετές περιοχές της χώρας και κυρίως στη Θάσο, στη Χαλκιδική, στην Εύβοια, στη Σκόπελο, στη Σκιάθο, στη Ρόδο, στην Κρήτη κ.τ.λ.

Λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας του πευκόμελου σε γλυκόζη, η κρυστάλλωσή του γίνεται με αρκετά βραδύ ρυθμό. Τα αμιγή πευκόμελα παραμένουν ρευστά για περισσότερο από ενάμισι χρόνο, ενώ με την ανάμιξη

τους με μέλι βαμβακιού, ερείκης, ηλίανθου ή πολυκόμβου κρυσταλλώνουν σε 2-5 μήνες. Το χρώμα των πευκόμελων είναι χαρακτηριστικό.

Άτομα εξοικειωμένα με τις διάφορες γεύσεις μελιών, μπορούν να ξεχωρίσουν εύκολα ένα πευκόμελο από ένα ανθόμελο. Το πευκόμελο που παράγεται την Άνοιξη, δεν είναι το ίδιο με εκείνο του Φθινοπώρου. Είναι πιο ανοιχτόχρωμο, πιο διαυγές, έχει ιδιαίτερο άρωμα, η HMF είναι πιο χαμηλή και στο ίζημά του βρίσκονται γυρεόκοκκοι πεύκου.

Ο μεγάλος αριθμός ειδών γυρεόκοκκων που βρίσκονται στα ελληνικά πευκόμελα μπορεί να εξηγηθεί ως δευτερογενής επιβάρυνση του προϊόντος από την αποθηκευμένη ανοιξιιάτικη γύρη. Είναι γνωστό πως ο γόνος στα πευκοδάση το Φθινόπωρο λιγοστεύει σημαντικά και αρκετή γύρη που βρίσκεται στα στεφάνια του γόνου, σκεπάζεται με μέλι. Αρκετοί μελισσοκόμοι τρυγάνε τα πλαίσια αυτά δύο και τρεις φορές, με αποτέλεσμα μέρος από την αποθηκευμένη γύρη να πέσει στο μέλι κατά την διαδικασία της φυγοκέντρισης. Επιπρόσθετη γύρη στα πευκόμελα μπορεί να βρεθεί από τα αποθηκευμένα ανοιξιιάτικα ή καλοκαιρινά μέλια, τα οποία αφήνονται στις κηρήθρες και τρυγιούνται μαζί με το φθινοπωρινό πευκόμελο.

Γυρεόκοκκοι που ανιχνεύονται στα Ελληνικά πευκόμελα, είναι κυρίως γυρεόκοκκοι καστανιάς και ερείκης, σε ποσοστά 1-45%. Στο ανοιξιιάτικο πευκόμελο συναντώνται γυρεόκοκκοι πεύκου.

Η θρεπτική αξία του πευκόμελου οφείλεται στο μεγάλο αριθμό διαφορετικών ουσιών που συνυπάρχουν στη σύστασή του. Ξεχωριστή θέση κατέχουν τα ιχνοστοιχεία, τα οποία βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο Ελληνικό πευκόμελο, χαρακτηρίζοντάς το ως μέλι υψηλής θρεπτικής



**Εικόνα 2:** Πεύκο <http://www.herb.gr>

αξίας.(Θρασυβούλου και συνεργάτες., 2002).

**Πίνακας 6:** Η χημική σύσταση του ελληνικού πευκόμελου (Θρασυβούλου, Μανίκης, Τανανάκη, Τσέλλιος, Καραμπουρνιώτη, Δήμου 2001).

ΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	ΕΛΑΧ.-ΜΕΓ. ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΣΥΝΤΕΛ ΠΑΡΑΔ. %
Υγρασία %	68	16,7	14,8-18,9	1,060	34,7
Τέφρα %	68	0,6	0,4-0,7	0,300	5,0
pH	68	4,5	3,8-5,4	0,210	4,6
HMF ppm	70	2,4	0,0-8,9	2,310	96,2
Γλυκόζη %	60	24,7	22,2-28,5	2,110	8,5
Φρουκτόζη %	60	30,4	26,5-36,7	2,300	7,5
Γλυκόζη+Φρουκτόζη %	60	55,1	48,7-65,2	4,400	4,1
Ανάγοντα σάκχαρα %	60	58,8	52,9-67,4	4,990	8,4
Σουκρόζη %	60	0,9	0,6-1,9	0,200	32,1
Ελεύθερη οξύτητα (meq/Kg)	35	20,7	12,3-29,9	3,300	62,7
Συνολική οξύτητα (meq/Kg)	35	28,9	18,4-37,1	4,500	15,7
Χρώμα 560nm	35	0,6	0,348-0,925	0,200	33,3
Αγωγιμότητα mS/cm	68	1,23	1,00-1,65	0,120	9,7
Διαστάση DN	48	28,4	15,1-37,2	8,200	28,8
Ιμπερτάση IN	45	25,3	10,3-36,6	4,310	13,6
Προλίνη (mg/Kg)	75	525	312-799	260	49,5
HD.E/P	45	0,28	0,05-0,92	0,230	82,1
Κάλιο (mg/Kg)	20	3,35	2,4-4,65	0,640	19,1
Νάτριο (mg/Kg)	20	0,45	0,15-0,75	0,850	188,8
Ασβέστιο (mg/Kg)	20	5,3	2,8-11,2	2,000	37,7
Μαγνήσιο (mg/Kg)	20	3,2	0,8-6,4	1,700	53,2
Μαγγάνιο (mg/Kg)	20	0,005	0,001-0,012	0,004	80,0
Ψευδάργυρος (mg/Kg)	20	0,007	0,000-0,014	0,004	57,1
Σίδηρος (mg/Kg)	20	0,013	0,000-0,031	0,011	84,6
Χαλκός (mg/Kg)	20	0,020	0,000-0,041	0,010	50,0

#### 1.4.2. Ελάτη-*Abies*

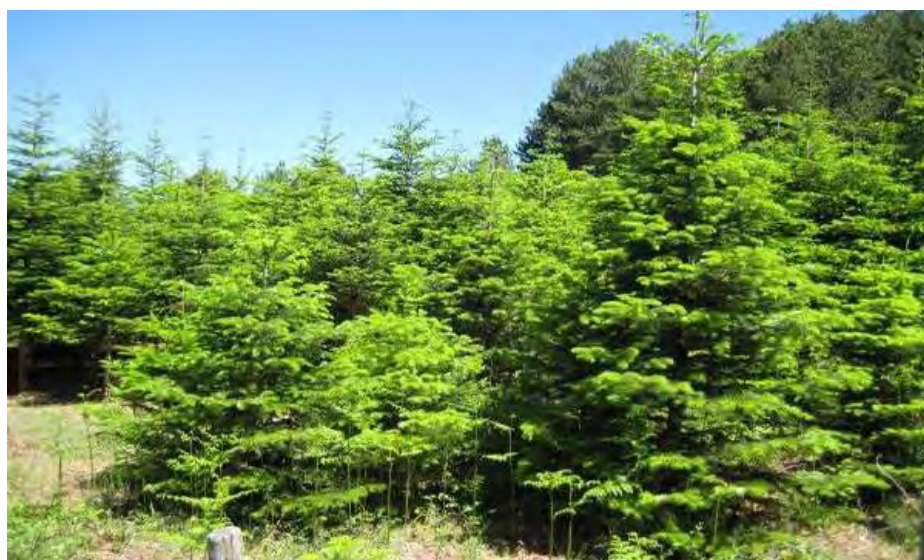
Το μέλι ελάτης αποτελεί σημαντική πηγή εισοδήματος για τον Έλληνα μελισσοκόμο, αφού συμβάλλει κατά 5%-10% στη συνολική ετήσια παραγωγή του μελιού στην Ελλάδα.

Στην Ελλάδα απαντάται η **ελάτη η κεφαλληνιακή**(*Abies cephalonica*), που καλύπτει μεγάλες εκτάσεις στις ορεινές περιοχές νότια του Ολύμπου, στην Ευρυτανία, στο Περιούλι, στον Ταΰγετο, στην Αρκαδία, στην Πάρνηθα κ.ά. Η **ευρωπαϊκή ελάτη**(*Abies alba* ή *Abies pectinata*), φύεται σε όλη την Ευρώπη μέχρι τον Καύκασο και συναντάται μόνο σε μεμονωμένα σημεία των βορείων ελληνικών συνόρων(βόρεια της οροσειράς του Ολύμπου). Στην οροσειρά της Πίνδου συναντάται η **υβριδογενής ελάτη**(*Abies hybrida* ή *Abies borisii*), η οποία είναι διασταύρωση της ευρωπαϊκής ελάτης με την ελληνική.(Θρασυβούλου και συνεργάτες., 2002).

Σύμφωνα με τον Santas(1983,1988) στα ελληνικά δάση ελάτης παρασιτούν τα κοκκοειδή *Physokermes hemicryphous* και *Eulecanium sericeum* και οι αφίδες *Mindarus abierinus*, *Cinara confines* και *Cinara pertinatae* παράγοντας μελιτώδεις εκκρίσεις εκμεταλλεύσιμες από τις μέλισσες. Το σημαντικότερο από τα έντομα αυτά, είναι το *Physokermes hemicryphus* το οποίο παρασιτεί στην ευρωπαϊκή και κεφαλληνιακή ελάτη και οι αποδόσεις μπορεί να φτάσουν ως 30 κιλά μελιού ανά μελίσι.

Το μέλι ελάτης είναι από τις κατηγορίες ελληνικού μελιού με ιδιαίτερα καλή γεύση και χαρακτηριστική εμφάνιση, παράμετροι που το κάνουν να ξεχωρίζει. Το χρώμα και η εμφάνισή του ποικίλουν ανάλογα με τον τόπο προέλευσής του. Για παράδειγμα, το μέλι ελάτης που παράγεται στην περιοχή Βυτίνα Αρκαδίας, έχει ιδιαίτερη, χαρακτηριστική εμφάνιση λόγω των μεταλλικών ανταυγείων που δημιουργούνται στο εσωτερικό του, είναι ιδιαίτερα πυκνόρρευστο και φέρει την ονομασία «έλατο βανίλιας». Για το μέλι Ελάτης Μαινάλου-Βανίλιας, αναγνωρίστηκε Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης (Απόφαση 313049 ΦΕΚ/Β 16.1.1994) με χημικά χαρακτηριστικά εκείνα του μελιού ελάτης και με επιπλέον χαρακτηριστικό την υγρασία(14%-15,5%) και τη φαινόμενη σακχαρόζη(8%-18%). Λόγω του

χαμηλού του ποσοστού σε γλυκόζη, δεν κρυσταλλώνει, γεγονός που το κάνει περιζήτητο για ανάμιξη σε εμπορικούς τύπους.



**Εικόνα 3:** Έλατο <http://www.paragogi.net>

**Πίνακας 7:** Η χημική σύσταση του Ελληνικού μελιού ελάτης (Θρασυβούλου, Μανίκης, Τανανάκη, Τσέλλιος, Καραμπουρνιώτη, Δήμου 2001).

ΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩ Ν	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	ΕΛΑΧ.-ΜΕΓ. ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣ Η	ΣΥΝΤΕΛ. ΠΑΡΑΔ. %
Υγρασία %	80	15,7	13,0-18,5	1,180	7,5
Τέφρα %	80	0,85	0,4-1,2	0,130	15,2
pH	80	4,75	4,0-5,9	0,260	5,0
HMF mg/Kg	80	3,62	0,6-7,35	2,300	63,5
Γλυκόζη %	60	24,0	21,1-27,7	1,300	5,4
Φρουκτόζη %	60	32,1	27,4-37,2	2,300	7,1
Γλυκόζη+Φρουκτόζη %	44	56,1	38,5-64,9	6,700	11,9
Ανάγοντα σάκχαρα %	40	53,4	41,7-66,7	7,130	13,3
Σουκρόζη %	80	1,2	0,8-1,7	0,040	10,0
Χρώμα 560nm	80	0,285	0,189-480	0,090	30,2
Αγωγιμότητα mS/cm	80	1,34	1,0-1,71	0,590	44,0



Διαστάση DN	80	18,5	10,4-35,6	5,040	27,2
Ιμβερτάση IN	80	26,5	17,2-38,7	8,600	21,6
Προλίνη (mg/Kg)	80	491	290-840	167,000	34,1
Ελεύθερη οξύτητα meq/Kg	20	25,7	22,4-29,6	2,300	8,9
Λακτόνη meq/Kg	20	5,6	5,11-6,10	0,600	10,7
Συνολική οξύτητα meq/Kg	20	31,3	28,6-34,1	3,500	11,1
HD.E/P	65	0,72	0,12-1,45	1,210	172,0
Κάλιο (mg/Kg)	20	3,93	3,05-4,45	0,450	11,4
Νάτριο (mg/Kg)	20	0,28	0,15-0,45	0,070	25,0
Ασβέστιο (mg/Kg)	20	3,8	2,0-7,2	1,500	39,4
Μαγνήσιο (mg/Kg)	20	3,9	1,6-6,4	1,500	38,4
Μαγγάνιο (mg/Kg)	20	0,390	0,004-0,177	0,050	12,8
Ψευδάργυρος (mg/Kg)	20	0,006	0,000-0,008	0,002	33,3
Σίδηρος (mg/Kg)	20	0,032	0,000-0,127	0,045	140,0
Χαλκός (mg/Kg)	20	0,003	0,000-0,005	0,001	33,3

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρείται ότι το μέλι ελάτης παρουσιάζει χημικό ποσοστό υγρασίας(M.O. 15,2%). Μερικά δείγματα βρέθηκαν με υγρασία χαμηλότερη του 14%, γεγονός που όπως είναι γνωστό, ευνοεί τη γρήγορη κρυστάλλωση του μελιού. Η κρυστάλλωση όμως αποτρέπει λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας του μελιού ελάτης σε γλυκόζη.

Επίσης, παρατηρείται χαμηλή περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα, δηλαδή χαμηλή φυσική περιεκτικότητα σε δεξτρόζη και φρουκτόζη. Η ιδιαιτερότητα αυτή αναφέρθηκε πρώτα από τον Κωδούνη (1962), ο οποίος βρήκε σε αντιπροσωπευτικό δείγμα μελιού ελάτης ανάγοντα σάκχαρα 58,78%. Από αναλύσεις που έγιναν στο Α.Π.Θ. και το Γερμανικό Ινστιτούτο της Βρέμης, διαπιστώθηκε ότι το 83% των δειγμάτων του μελιού ελάτης που εξετάστηκαν, είχαν ανάγοντα σάκχαρα κάτω από 60%. Επίσης, η ομάδα εργασίας για το μέλι του ΥΠΑΑΤ, στην έκθεσή της αναφέρει ανάγοντα σάκχαρα σε 16 δείγματα πευκόμελων και μελιών ελάτης από 51,53% έως 69,89% και μέσο όρο 58,7%. Με τη νέα οδηγία της Ευρωπαϊκής

Ένωσης(2001/110 Ε.Κ.) τα ανάγοντα σάκχαρα καταργούνται ως ποιοτικό κριτήριο και αντί αυτού χρησιμοποιείται το άθροισμα γλυκόζης και φρουκτόζης(>45%). Στο νέο αυτό κριτήριο, τα μέλια ελάτης επίσης δεν ανταποκρίνονται.(Θρασυβούλου και συνεργάτες., 2002).

#### 1.4.3. Καστανιά-*Castanea sativa*

Παράγεται από το νέκταρ και τις μελιτώδεις εκκρίσεις της Καστανιάς (*Castanea sativa*), που είναι αξιόλογο μελισσοκομικό φυτό και αρκετά διαδεδομένο στην ορεινή ζώνη της χώρας μας. Στη Μακεδονία το μέλι καστανιάς συλλέγεται κυρίως στη χερσόνησο του Άθω(Άγιο Όρος). Οι μελιτώδεις εκκρίσεις παράγονται από την αφίδα *Myzocallis castanicola* που εγκαθίσταται στην κάτω επιφάνεια των φύλλων αλλά και πάνω στα εχινόμορφα κύπελλα που περιβάλλουν τους καρπούς. Οι μελιτώδεις εκκρίσεις ξεκινούν τον Μάιο και συνεχίζονται μέχρι τον Ιούλιο και αργότερα.(Santas.,1995).



Εικόνα 4: Καστανιά <https://agrosimvoulos.gr/kalliergeia-kastania/>

**Πίνακας 8:** Η χημική σύσταση του Ελληνικού μελιού καστανιάς (Θρασυβούλου, Μανίκης, Τανανάκη, Τσέλλιος, Καραμπουρνιώτη, Δήμου 2001).

ΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	ΕΛΑΧ.-ΜΕΓ. ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΣΥΝΤΕΛ. ΠΑΡΑΛ. %
Υγρασία %	25	16,4	14,8-17,6	0,710	4,3
Τέφρα %	25	0,8	0,6-1,2	0,150	18,7
pH	25	4,9	4,4-5,4	0,190	3,8
HMF ppm	25	3,5	1,68-8,25	1,760	50,2
Γλυκόζη %	25	29,5	23,5-33,3	2,300	7,7
Φρουκτόζη %	25	37,6	33,0-44,8	3,200	8,5
Γλυκόζη+Φρουκτόζη %	25	67,1	56,5-78,1	5,800	8,6
Ανάγοντα σάκχαρα	25	64,1	57,8-75,6	4,900	7,6
Σουκρόζη %	25	1,5	1,1-1,9	0,250	50,0
Χρώμα 560nm	25	0,52	0,31-0,68	0,089	17,1
Αγωγιμότητα mS/cm	25	1,53	1,11-2,06	0,320	21,1
Διαστάση DN	25	32,5	16,5-51,0	8,900	27,3
Ιμπερτάση IN	25	20,4	16,4-34,3	4,000	16,6
Προλίνη (mg/Kg)	25	554	432-734	139,000	25,0
Ελεύθερη οξύτητα (meq/Kg)	25	13,4	9,5-27,5	3,000	22,3
Συνολική οξύτητα (meq/Kg)	25	17,3	12,1-21,3	4,000	23,1
Γυρεόκοκκοι %	25	90,4	85,0-95,0	3,300	3,6
Κάλιο (mg/Kg)	15	3.09	2,0-3,7	0,630	20,5
Νάτριο (mg/Kg)	15	0,260	0,15-0,35	0,050	19,9
Ασβέστιο (mg/Kg)	15	5,300	3,2-7,2	1,300	24,6
Μαγνήσιο (mg/Kg)	15	4,100	2,4-6,4	1,300	32,9
Μαγγάνιο (mg/Kg)	15	0,005	0,001-0,010	0,003	67,9
Σίδηρος (mg/Kg)	15	0,010	0,005-0,017	0,004	37,8

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα, η χημική σύσταση του ελληνικού μελιού καστανιάς, οι τιμές τέφρας, Ph, αναγόντων σακχάρων και αγωγιμότητας, είναι οι χαρακτηριστικές του μέλι μελιτώματος , το

καστανόμελο όμως κατατάσσεται στα ανθόμελα γιατί είναι αριστερόστροφο. Το ελληνικό μέλι καστανιάς δεν διαφέρει από το αντίστοιχο μέλι της ίδιας βοτανικής προέλευσης που παράγεται σε άλλες χώρες (Accorti et al. 1986; Persano Oldo., 1995). Όλα χαρακτηρίζονται από υψηλές τιμές pH, αγωγιμότητας, τέφρας και υψηλές συγκεντρώσεις ενζύμων.

Το μέλι καστανιάς έχει μικρότερη περιεκτικότητα σε ζύμες και ανθίσταται περισσότερο στη ζύμωση από άλλα μέλια. Ως προς το χρώμα ποικίλει ανάλογα με τον τόπο προέλευσης από ανοικτό μέχρι σκούρο καφέ, ακόμα και μαύρο όταν πρόκειται για μελίτωμα. Η γεύση του είναι δυνατή, έντονη, πικρή και με διάρκεια και συνοδεύει τη δυνατή εντύπωση που προκαλεί το άρωμά του. Η γεύση και το άρωμα του μελιού καστανιάς είναι τόσο δυνατό και χαρακτηριστικό, που μια μικρή αναλογία του υπερκαλύπτει τη γεύση άλλων μελιών. Σύμφωνα με τον Caillas (1971), το μέλι καστανιάς επιταχύνει την κυκλοφορία του αίματος και δρα ως στυπτικό σε μερικές περιπτώσεις δυσεντερίας.

Στη νέα οδηγία της Ε.Ε. το μέλι καστανιάς αναφέρεται ως ανθόμελο με χαρακτηριστικά μελιτώματος (κατ' εξαίρεση). Για το λόγο αυτό, θα πρέπει να αναγράφεται στη ετικέτα συσκευασίας του η βοτανική του προέλευση, είτε αυτό διατίθεται αμιγές, είτε σε ανάμιξη. Λόγω αυτής της ιδιαιτερότητας θα πρέπει να έχει αγωγιμότητα μεγαλύτερη από  $1,1 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$  (Θρασυβούλου και συνεργάτες., 2002).

#### **1.4.4. Θυμαρί-*Thymussp***

Από τους 12.000 περίπου τόνους που παράγει ετησίως η χώρα μας, οι 1.000, δηλαδή το 10% περίπου, είναι θυμαρίσιο. Το θυμαρίσιο μέλι θεωρείται και είναι άριστης ποιότητας λόγω του εξαιρετικού αρώματος και γεύσης που διαθέτει. Παράγεται κυρίως στα νησιά, αλλά και σε περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας που φυτρώνουν διάφορα είδη θυμαριού. Το θυμαρίσιο μέλι έχει ευχάριστη γεύση αλλά μερικές φορές, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης σε φρουκτόζη, δίνει την αίσθηση καψίματος στο λάρυγγα. Το άρωμά του είναι ευχάριστο και χαρακτηριστικό. Αναφέρεται ότι το θυμαρίσιο μέλι είναι

τονωτικό, έχει αντισηπτικές ιδιότητες, αυξάνει την ενεργητικότητα και τις φυσικές δυνάμεις του ανθρώπου.(Kagias.,1971).

Το χρώμα του είναι συνήθως ανοιχτό κεχριμπαρένιο και κρυσταλλώνει σε διάστημα 6-18 μηνών.(Θρασυβούλου και Μανίκης., 1990).

Το μέλι που παράγεται στην Ελλάδα προέρχεται κυρίως από τα είδη *Corynodothymus capitatus*, *Thymusserpyllum* και *Saturejasp.* Φρύγανο πολύκλαδο, πυκνό, αρωματικό, μικρό, με άνθη σε πυκνές κεφαλόμορφες ταξιανθίες. Κοινό σε ημιορεινή ζώνη και σε πετρώδεις θέσεις. Η άνθηση του φυτού γίνεται κυρίως Μάιο με Ιούνιο.(Θρασυβούλου και Μανίκης., 1990).



Εικόνα 5: Θυμαρί <http://vip-newshellas.gr>

**Πίνακας 9:** Η χημική σύσταση του Ελληνικού θυμαρίσιου μελιού  
(Θρασυβούλου, Μανίκης, Τανανάκη, Τσέλλιος, Καραμπουρνιώτη, Δήμου 2001).

ΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩ N	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	ΕΛΑΧ.-ΜΕΓ. ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣ Η	ΣΥΝΤΕΛ. ΠΑΡΑΛ. %
Υγρασία %	63	16,3	14,7-20,3	0,780	4,7
Τέφρα %	62	0,2	0,1-0,6	0,120	60,0
pH	63	3,5	3,1-4,1	0,140	4,0
HMF ppm	60	5,6	0,2-15,1	2,500	44,6
Γλυκόζη %	40	26,9	24,4-35,2	5,370	19,9
Φρουκτόζη %	40	37,4	30,2-44,5	1,100	2,9
Γλυκόζη+Φρουκτόζη %	40	64,3	54,6-79,7	6,370	9,9
Ανάγοντα σάκχαρα	50	72,6	65,3-80,6	7,900	10,8
Σουκρόζη %	40	0,5	0,3-1,85	0,050	8,3
Αγωγιμότητα mS/cm	69	0,39	0,22-0,60	0,090	23,3
Διαστάση DN	60	30,2	15,1-48,2	8,600	28,4
Ιμπερτάση IN	25	24,1	16,5-34,4	9,010	25,7
Προλίνη (mg/Kg)	45	790	596-1205	232	29,3
Ελεύθερη οξύτητα (meq/Kg)	40	22,5	19,5-42,3	4,500	20,0
Συνολική οξύτητα (meq/Kg)	40	28,5	20,1-42,1	4,200	14,7
Γυρεόκοκκοι %	60	25,6	15,5-85,1	16,800	65,6
Κάλιο (mg/Kg)	40	1,150	0,7-2,35	0,430	37,7
Νάτριο (mg/Kg)	40	0,19	0,05-0,85	0,170	88,3
Ασβέστιο (mg/Kg)	40	4,8	2,8-7,6	1,300	27,1
Μαγνήσιο (mg/Kg)	40	1,6	0,4-8,4	1,800	110,4
Μαγγάνιο (mg/Kg)	40	0,050	0,08-0,081	0,050	58,7
Ψευδάργυρος (mg/Kg)	40	0,007	0,00-0,012	0,003	48,7
Σίδηρος (mg/Kg)	40	0,110	0,00-0,138	0,060	56,7
Χαλκός (mg/Kg)	40	0,050	0,002-0,123	0,070	138,7



#### 1.4.5. Ερείκη-Erica



Εικόνα 6: Ερείκη <http://evritanikigi.gr>

Στην Ελλάδα υπάρχουν τέσσερα φυτά της οικογένειας των Ερεικωδών, από τη νεκταροέκκριση των οποίων παράγονται αντίστοιχοι τύποι μελιού. Η *φθινοπωρινή ερείκη* γνωστή και ως «σουσουρά» (*Erica vertillata*), η *ανοιζιάτικη ερείκη* (*Erica arborea*), η *Κουμαριά* (*Arbutus unedo*) και το *Ροδόδενδρο* (*Rhododendron*).

##### α) Μέλι φθινοπωρινής ερείκης-*Erica vertillata*

Το μέλι της φθινοπωρινής ερείκης (σουσουρά) παράγεται σε μεγάλες ποσότητες σε πολλές περιοχές της χώρας. Είναι προϊόν με ιδιαίτερα υψηλή θρεπτική αξία γι' αυτό και η διάθεσή του γίνεται συχνά από τα καταστήματα υγιεινής διατροφής.

Από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά που παρατηρούνται στο ακόλουθο πίνακα ξεχωρίζουν οι τιμές υγρασίας που είναι συγκριτικά με άλλες κατηγορίες μελιού υψηλές. Μάλιστα σε ορισμένες περιπτώσεις υπερβαίνουν το όριο των αγορανομικών διατάξεων (20%). Η υπέρβαση αυτή γίνεται δεκτή από τις αγορανομικές διατάξεις ως ιδιομορφία κατ' εξαίρεση για το ερεικόμελο.

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα είναι επίσης σχετικά υψηλή και βρίσκεται ανάμεσα στις τιμές των ανθόμελων και των δασόμελων, γεγονός που επιτρέπει τη διάκριση του ερεικόμελου από τα άλλα ανθόμελα.

Το χρώμα του φθινοπωρινού ερεικόμελου κοκκινωπό, η γεύση και το άρωμά του χαρακτηριστικά. Λόγω της φυσικής περιεκτικότητάς του σε γλυκόζη, κρυσταλλώνει πολύ γρήγορα (1-3 μήνες), γι' αυτό και δεν προσφέρεται για ανάμιξη με άλλα μέλια και δημιουργία εμπορικών τύπων (χαρμάνια). Χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή γιατί ξινίζει πιο εύκολα από τα άλλα είδη μελιών λόγω της υψηλής υγρασίας και της μεγάλης του περιεκτικότητας σε σακχαρομύκητες. (Θρασυβούλου και συνεργάτες., 2002).

**Πίνακας 10:** Η χημική σύσταση του Ελληνικού μελιού ερείκης (Θρασυβούλου, Μανίκης, Τανανάκη, Τσέλλιος, Καραμπουρνιώτη, Δήμου 2001).

ΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	ΕΛΑΧ.-ΜΕΓ. ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣ Η	ΣΥΝΤΕΛ. ΠΑΡΑΛ. %
Υγρασία %	35	18,8	16,0-23,0	2,190	11,60
Τέφρα %	35	0,4	0,3-0,6	0,110	27,50
pH	35	4,2	3,3-4,62	0,270	6,40
HMF ppm	35	4,3	0,0-11,9	3,200	7,40
Γλυκόζη %	35	31,2	29,4-38,8	1,500	4,80
Φρουκτόζη %	35	36,8	34,8-43,4	2,500	6,70
Γλυκόζη+Φρουκτόζη %	35	68,0	64,2-82,2	4,100	6,00
Ανάγοντα σάκχαρα	35	74,3	69,8-81,7	8,300	11,10
Σουκρόζη %	35	0,25	0,20-0,50	0,040	16,00
Χρώμα 560nm	35	0,524	0,396-0,644	0,114	26,80
Αγωγιμότητα mS/cm	35	0,67	0,56-0,89	0,160	23,80
Διαστάση DN	35	27,6	15,9-32,1	5,300	19,20
Ιμπερτάση IN	20	19,6	12,7-39,6	4,700	29,20
Προλίνη (mg/Kg)	35	536	329-931	332	61,2
Συνολική οξύτητα (meq/Kg)	20	31,6	31,8-43,6	2,500	7,90
Ποσοστό γυρεοκόκκων %	35	63,3	45,0-90,0	15,600	24,60
Κάλιο (mg/Kg)	20	2,38	2,15-2,55	0,130	5,69
Νάτριο (mg/Kg)	20	0,1	0,1-0,1	0,000	0,00
Ασβέστιο (mg/Kg)	20	5,1	4,0-6,0	0,700	13,40
Μαγνήσιο (mg/Kg)	20	2,8	1,6-5,2	1,300	46,90
Μαγγάνιο (mg/Kg)	20	0,030	0,00-0,042	0,020	60,70



## **β) Ανοιξιάτικο μέλι ερείκης-*Erica arborea***

Το ανοιξιάτικο μέλι ερείκης σε σχέση με το φθινοπωρινό, είναι ανοιχτόχρωμο, έχει διαφορετική γεύση και χαρακτηρίζεται από υψηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης, που σε πολλές περιπτώσεις κυμαίνεται υψηλότερα από τη συγκέντρωση της φρουκτόζης.(Seeley.,1985).

## **γ) Κουμαριά-*Arbutus unedo***

Η κουμαριά είναι ένας θάμνος που βρίσκεται σχεδόν σε όλη τη χώρα. Η ανθοφορία του θάμνου παρατηρείται από τον Οκτώβριο μέχρι τις αρχές του Δεκεμβρίου. Στο δέντρο της κουμαριάς έχει απομονωθεί η κουμαρίνη, η οποία είναι το πιο διαδεδομένο αντισηπτικό.

Το μέλι κουμαριάς έχει υψηλά ποσοστά υγρασίας και μεγάλη περιεκτικότητα σε ζύμες, γι' αυτό το λόγο πολλές φορές ξινίζει εύκολα. Έχει έντονο άρωμα αλλά πικρή γεύση και το χρώμα του είναι πολύ σκούρο, σχεδόν μαύρο. Μερικές από τις ιδιότητές του είναι να καθαρίζει το αίμα και να ρυθμίζει τα επίπεδα της χοληστερόλης εξαιτίας της ουσίας αρβουτίνη που περιέχει. Επιπλέον τονώνει το ανοσοποιητικό σύστημα, χαρίζει μακροζωία και θεωρείται μέλι που ενδείκνυται για τους διαβητικούς. Περιέχει και φυσικές αντιβιοτικές ουσίες σε μεγαλύτερο ποσοστό από τα υπόλοιπα μέλια με αποτέλεσμα να αποτελεί ασπίδα για τον οργανισμό για διάφορες ασθένειες. Το μέλι αυτό επίσης περιέχει τον πολυσακχαρίτη τυρανόζη, ο οποίος όπως αποδείχτηκε πειραματικά αυξάνει την ζωή των κυττάρων και το ένζυμο διαστάση ή αμυλάση, το οποίο διασπά το άμυλο. Στην Ελλάδα παράγεται σχεδόν κάθε χρόνο στην Πελοπόννησο, στη Χαλκιδική και σε άλλα μέρη.(Θρασυβούλου και Μανίκης., 1990).

## **δ) Ροδόδενδρο-*Rhododendron***

Είναι από την Κύρου Ανάβαση του Ξενοφώντα, γνωστή η ιστορία των «μυρίων» που δηλητηριάστηκαν από μέλι το οποίο, όπως αποδείχτηκε, προερχόταν από ένα είδος Ροδόδενδρου. Υπάρχουν περίπου 400 είδη Ροδόδενδρου. Στην Ελλάδα συναντώνται κυρίως η *Αζαλέα*, η *Κάλμια* και η *Ασκληπιάς*. Το μέλι που προέρχεται από τα φυτά αυτά, **πριν ωριμάσει**,

περιέχει την ουσία **ανδρομεδοτοξίνη**, η οποία είναι τοξική τόσο για τις μέλισσες όσο και για τον άνθρωπο. Όταν το μέλι ωριμάσει πλήρως, η τοξικότητα της ουσίας αυτής εξαφανίζεται. Πιστεύεται ότι η δηλητηρίαση των «μυρίων» οφείλεται στην κατανάλωση ανώριμου μελιού ροδόδενδρου, που πάρθηκε από κηρήθρες πριν σφραγιστούν.(Olszowy., 1997). Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, περιπτώσεις δηλητηρίασης από μέλι ροδόδενδρου είναι τόσο σπάνιες που θα μπορούσε κανείς να τις κατατάξει μάλλον σε αλλεργική αντίδραση του ανθρώπινου οργανισμού.(Olszowy., 1977, Krochmal., 1994).

#### **1.4.6. Ηλίανθος –*Helianthus annuus***

Ο ηλίανθος καταλαμβάνει σημαντικές καλλιεργούμενες εκτάσεις στη χώρα μας και δίνει μεγάλη παραγωγή μελιού. Σε μέτριες χρονιές ένα μελίσσι μπορεί να συλλέξει από 2,4 έως 15 κιλά μέλι ηλίανθου, με δυνατότητα μέχρι και 40 κιλά.

Από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του ηλίανθου που αναγράφονται στον ακόλουθο πίνακα, επισημαίνεται το υψηλό ποσοστό υγρασίας που συμβάλλει στο γρήγορο ξίνισμα του προϊόντος, η χαμηλή συγκέντρωση διαστάσης που το κάνει ευαίσθητο στη θέρμανση και οι υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης που είναι η αιτία της γρήγορης και ανομοιόμορφης κρυστάλλωσης του μελιού αυτής της κατηγορίας. Το μέλι ηλίανθου είναι πλούσιο σε πολυφαινόλες, οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατροφή μας. Επειδή κρυσταλλώνει γρήγορα κι έχει βουτυρώδη γεύση, προσφέρεται για λεπτοκρυστάλλωση.(Θρασυβούλου και συνεργάτες., 2002).



**Εικόνα 7:** Ηλιάνθος <https://energypress.gr>

**Πίνακας 11:** Η χημική σύσταση του Ελληνικού μελιού ηλιάνθου (Θρασυβούλου, Μανίκης, Τανανάκη, Τσέλλιος, Καραμπουρνιώτη, Δήμου 2001).

ΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	ΕΛΑΧ.-ΜΕΓ. ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣ Η	ΣΥΝΤΕΛ. ΠΑΡΑΛ. %
Υγρασία %	40	17,9	15,5-20,6	0,840	4,60
Τέφρα %	40	0,2	0,1-0,4	0,100	50,00
pH	40	3,6	2,9-4,0	0,120	3,30
HMF ppm	40	4,7	1,0-8,2	1,780	37,80
Γλυκόζη %	40	35,4	30,4-39,8	6,260	17,60
Φρουκτόζη %	40	39,7	34,5-46,8	2,740	7,20
Γλυκόζη+Φρουκτόζη %	40	75,1	64,9-86,6	8,300	11,01
Σουκρόζη %	40	0,5	0,3-0,9	-	-
Αγωγιμότητα mS/cm	40	0,42	0,26-0,57	0,220	52,30
Διαστάση DN	40	20,4	12,3-44,2	9,170	44,90
Ιμβερτάση IN	40	27,3	22,5-31,3	4,600	16,80
Προλίνη (mg/Kg)	40	665	298-1199	352	52,90
Ελεύθερη οξύτητα (meq/Kg)	40	21,4	10,3-35,4	6,700	31,30
Συνολική οξύτητα (meq/Kg)	40	25,4	15,4-36,2	5,400	21,20

Γυρεόκοκκοι %	20	40,5	21,1-81,1	17,700	43,70
Κάλιο (mg/Kg)	20	0,88	0,65-1,10	0,200	22,90
Νάτριο (mg/Kg)	20	0,05	0,05-0,05	0,000	0,00
Ασβέστιο (mg/Kg)	20	4,7	3,2-5,6	1,000	20,30
Μαγνήσιο (mg/Kg)	20	4,3	1,2-9,6	2,500	58,60
Μαγγάνιο (mg/Kg)	20	0,006	0,01-0,013	0,004	72,10
Σίδηρος (mg/Kg)	20	0,022	0,005-0,046	0,013	57,70
Χαλκός (mg/Kg)	20	0,013	0,005-0,026	0,007	48,60

#### 1.4.7. Βαμβάκι-*Gossypium hirsutum*

Το μέλι βαμβακιού είναι μία από τις αμιγείς κατηγορίες μελιού που παράγει η Ελλάδα σε μεγάλες ποσότητες. Τα τελευταία χρόνια η παραγωγή του περιορίστηκε σημαντικά λόγω των μεγάλων απωλειών μελισσών που προκαλούνται στα μελίσσια από τα φυτοφάρμακα, καθώς και από τις μικρές αποδόσεις νέκταρος των νέων καλλιεργούμενων αυτογόνιμων ποικιλιών βαμβακιού.

Οι μέλισσες συλλέγουν νέκταρ από τα ανθικά και εξωανθικά νεκτάρια του φυτού του βαμβακιού, καθώς και το μελίτωμα που εκκρίνουν διάφορα έντομα που παρασιτούν στην καλλιέργεια (αφίδες, αλευρώδεις, μερικά ημίπτερα κ.ά.). Συχνά οι μέλισσες δείχνουν προτίμηση στα εξωανθικά νεκτάρια και τα μελιτώματα που είναι πλουσιότερα σε σάκχαρα.

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του βαμβακόμελου είναι σε γενικές γραμμές τα τυπικά χαρακτηριστικά των ανθόμελων, σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα.

Στο μέλι βαμβακιού που προέρχεται από μελιτώματα, το χρώμα είναι ανοιχτόχρωμο και όταν κρυσταλλώνει γίνεται σχεδόν άχρωμο, σε αντίθεση με τα τυπικά μέλια μελιτωμάτων που είναι σκοτεινόχρωμα. Διακρίνεται από το ανθόμελο από την υψηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα που παρουσιάζει και τη φτωχή περιεκτικότητά του σε γυρεόκοκκους βαμβακιού, που μόλις φτάνουν το 2%-7%. Το μέλι από μελιτώματα βαμβακιού μερικές φορές δεν έχει ιδιαίτερα καλή γεύση. Το βαμβακόμελο που προέρχεται από το άνθος είναι

επίσης ανοιχτόχρωμο και όταν κρυσταλλώσει γίνεται γαλακτόχρωμο. Η γεύση του είναι χαρακτηριστική βουτυρώδης.

Σύμφωνα με την ξένη βιβλιογραφία, σε ξηρικά αμμώδη εδάφη, το μέλι από βαμβάκι γίνεται σκοτεινόχρωμο και αποκτά έντονο άρωμα. Τέτοιο μέλι δεν παρατηρήθηκε ακόμα στα δείγματα που συγκεντρώνονται στην Ελλάδα.

Το βαμβακόμελο έχει την υψηλότερη βακτηριοκτόνο δράση από όλα τα άλλα μέλια, αφού είναι το πλουσιότερο σε υπεροξειδίο του υδρογόνου και προσφέρεται για αναμιξεις με βασιλικό πολτό, καλλυντικά, είδη υγιεινής διατροφής κ.ά. με την προϋπόθεση να μην έχει ζεσταθεί.(Θρασυβούλου και συνεργάτες., 2002).

**Πίνακας 12:** Η χημική σύσταση του Ελληνικού βαμβακόμελου (Θρασυβούλου, Μανίκης, Τανανάκη, Τσέλλιος, Καραμπουρνιώτη, Δήμου 2001).

ΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	ΕΛΑΧ.-ΜΕΓ. ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΣΥΝΤΕΛ. ΠΑΡΑΛ. %
Υγρασία %	40	17,9	16,8-19,8	0,93	5,10
Τέφρα %	40	0,2	0,1-0,5	0,05	25,00
pH	40	3,9	4,7-4,3	0,16	4,10
HMF ppm	40	5,8	2,4-9,2	1,67	28,70
Γλυκόζη %	40	33,4	30,5-38,9	3,81	11,40
Φρουκτόζη %	40	34,7	32,6-41,8	4,59	13,20
Γλυκόζη+Φρουκτόζη %	40	68,1	63,1-80,7	8,40	12,30
Σουκρόζη %	40	0,43	0,2-1,64	0,08	18,60
Αγωγιμότητα mS/cm	40	0,6	0,45-0,76	0,98	66,60
Διασάση DN	40	17,6	10,2-27,0	4,18	23,70
Ιμπερτάση IN	40	22,1	12,8-29,2	-	-
Προλίνη (mg/Kg)	40	432	305-650	103	238,40
Γυρεόκοκκοι %	40	13,3	10,2-20,3	4,50	33,80
Κάλιο (mg/Kg)	20	3,37	2,9-3,8	0,30	9,17
Νάτριο (mg/Kg)	20	0,15	0,05-0,20	0,04	32,00
Ασβέστιο (mg/Kg)	20	5,1	2,4-7,2	1,50	29,70

Μαγνήσιο (mg/Kg)	20	6,5	0,8-11,6	4,70	72,70
Μαγγάνιο (mg/Kg)	20	0,002	0,001-0,005	0,54	55,30
Σίδηρος (mg/Kg)	20	0,002	0,00-0,005	0,12	-
Χαλκός (mg/Kg)	20	0,060	0,055-0,071	0,51	-

#### **1.4.8. Εσπεριδοειδή-Πορτοκαλιά-*Citrus aurantium***

Το μέλι εσπεριδοειδών είναι αρωματικό, με ιδιαίτερα καλά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και με γρήγορο ρυθμό κρυστάλλωσης.

Χαρακτηριστικό της αμιγούς αυτής κατηγορίας μελιού, είναι η χαμηλή φυσική περιεκτικότητα στο ένζυμο διασάση. Οι αγορανομικές διατάξεις αναγνωρίζουν την ιδιαιτερότητα αυτή και δέχονται ως όριο διασάσης για το μέλι εσπεριδοειδών το 3DU, με τον όρο όμως η HMF να μην υπερβαίνει το 15mg/kg. Ο περιορισμός των 15mg/kg της HMF, αδικεί το μέλι πορτοκαλιάς, γιατί με την παλαίωση εύκολα η HMF μπορεί να ξεπεράσει το όριο και το προϊόν να βρεθεί στην κατηγορία των «βιομηχανικών μελιών», μολονότι δέχτηκε λιγότερη θερμική επεξεργασία από άλλα κανονικά μέλια.

Στον ακόλουθο πίνακα δίνονται τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του μελιού από πορτοκάλι. Το άθροισμα γλυκόζης και φρουκτόζης σε ακραίες περιπτώσεις είναι πιθανό να βρίσκεται κάτω από το όριο του 60% που απαιτεί η οδηγία 110/2001 Ε.Κ.



**Εικόνα 8:** Πορτοκαλιά <http://laconialive.gr>

**Πίνακας 13:** Η χημική σύσταση του Ελληνικού μελιού πορτοκαλιάς (Θρασυβούλου, Μανίκης, Τανανάκη, Τσέλλιος, Καραμπουρνιώτη, Δήμου 2001)

ΧΗΜΙΚΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ	ΜΕΣΟΣ	ΕΛΑΧ.-ΜΕΓ.	ΤΥΠΙΚΗ	ΣΥΝΤΕΛ.
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΟΡΟΣ	ΤΙΜΗ	ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΠΑΡΑΔ. %
Υγρασία %	35	16,9	16,0-18,5	0,660	3,90
Τέφρα %	35	0,1	0,1-0,2	0,050	50,00
pH	35	3,4	3,3-3,6	0,050	1,40
HMF ppm	35	5,6	2,5-10,7	2,530	45,10
Γλυκόζη %	35	31,2	24,8-35,7	2,500	8,00
Φρουκτόζη %	35	39,2	32,3-41,2	2,500	6,30
Γλυκόζη+Φρουκτόζη %	35	70,4	57,1-76,9	5,100	7,20
Σουκρόζη %	35	0,43	0,2-1,2	0,020	4,60
Αγωγιμότητα mS/cm	35	0,19	0,15-0,31	0,080	42,10
Διασάτηση DN	35	11,7	8,6-22,5	3,780	32,30
Ιμπερτάση IN	20	13,2	8,7-33,1	8,820	38,00
Προλίνη (mg/Kg)	35	526	264-734	134,000	25,40
Ελεύθερη οξύτητα (meq/Kg)	35	19,5	14,4-25,2	3,200	16,40
Συνολική οξύτητα (meq/Kg)	35	22,3	12,1-34,5	6,100	27,30
Ποσοστά γυρεοκόκκων %	35	9,6	7,6-14,1	1,800	18,70
Κάλιο (mg/Kg)	20	0,52	0,32-0,75	0,100	18,50
Νάτριο (mg/Kg)	20	0,06	0,05-0,10	0,030	51,20
Ασβέστιο (mg/Kg)	20	4,0	2,0-7,2	1,500	36,50
Μαγνήσιο (mg/Kg)	20	1,9	0,4-3,6	0,900	45,00
Μαγγάνιο (mg/Kg)	20	0,0016	0,001-0,010	0,032	20,50
Ψευδάργυρος (mg/Kg)	20	0,0210	0,00-0,014	0,021	102,90
Σίδηρος (mg/Kg)	20	0,0040	0,001-0,015	0,004	109,10
Χαλκός (mg/Kg)	20	0,0120	0,00-0,041	0,014	122,90

## 1.5. Μέλι Manuka



Το μέλι *Manuka* είναι ένα φυσικό, μονάνθινο μέλι, που παράγεται από μέλισσες που τρέφονται με φυτό *manuka*(*leptospermum scoparium*), το οποίο είναι ενδημικό σε μέρη της Αυστραλίας και της Νέας Ζηλανδίας. Περίπου το 10% όλων των υποτύπων του μελιού *Manuka* έχει αναφερθεί να παρουσιάζουν αντιβακτηριδιακή, αντιμυκητιασική και αντιπρωτοζωική δραστηριότητα εξαιτίας της μη

περιεκτικότητάς του σε υπεροξείδιο.

Το Πανεπιστήμιο του Waikato στο Χάμιλτον της Νέας Ζηλανδίας μελέτησε πρώτο τη σύνθεση του μελιού αυτού και την αντιμικροβιακή του δράση. Αναπτύχθηκε μια μέθοδος για να μετράει την αντιμικροβιακή δράση αυτού, το Unique Manuka Factor(UMF). Η μονάδα μέτρησης UMF κατηγοριοποιεί το μέλι με βάση την αντιβακτηριακή τους δύναμη. Κάθε παρτίδα ελέγχεται συστηματικά από εγκεκριμένο εργαστήριο και ταξινομείται κατά αύξουσα σειρά αποδοτικότητας σε κλίμακα από το 0 μέχρι το 25. Όσο πιο υψηλό το επίπεδο, τόσο πιο αποδοτική είναι η αντισηπτική δράση του. Η UMF, η μοναδική αξιόπιστη μονάδα μέτρησης αποδοτικότητας του μελιού *Manuka*, έχει προκύψει από τη σύγκριση της αντισηπτικής του ιδιότητας με αυτή του διαλύματος καρβοξυλικού οξέος, το οποίο είναι ένα πανίσχυρο αντισηπτικό μόριο που χρησιμοποιείται ευρέως στη μοντέρνα ιατρική. Το 2008, αναγνωρίστηκε η δραστική ουσία του *Manuka honey*, η μεθυλ-γλυοξάμη(MGO), η οποία ανιχνεύεται σε υψηλά επίπεδα.(Adams CJ., 2009). Η μεθυλ-γλυοξάμη σχηματίζεται από τη μετατροπή της δι-υδροξυακετόνης (DHA) που βρίσκεται σε εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις στο νέκταρ των λουλουδιών του μελιού *Manuka*(Adams CJ., 2009). Μικρές ποσότητες ενζυματικώς γλυοξάλης και μεθυλ-γλυοξάλης, έχουν βρεθεί σε τρόφιμα τα οποία έχουν υποστεί ζύμωση, όπως προϊόντα του γάλακτος, το κρασί και η



μπύρα με συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 3-11mg/kg.(Bednarski et al., 1989; De Revel and Bertrand., 1993). Επίσης η μεθυλ-γλυοξάλη σχηματίζεται κατά το καβούρδισμα του καφέ σε συγκεντρώσεις της τάξεως του 23-47mg/kg(Hayashi and Shibamoto., 1985). Πλέον η μεθυλ-γλυοξάλη (MGO) αναγράφεται στη συσκευασία του μελιού Manuka. Για παράδειγμα, MGO 100 σημαίνει ότι 100mg μεθυλ-γλυοξάλης περιέχονται σε 1kg μελιού.(Sherlock et al., 2010). Το μέλι Manuka είναι δραστικό ενάντια σε ένα πλήθος βακτηρίων, όπως το *Staphylococcus aureus*(*S.aureus*) και το *Helicobacter pylori* (*H.pylori*), καθιστώντας ως ένα λειτουργικό τρόφιμο για τη θεραπεία στομαχικών ελκών.(French et al., 2005). Έρευνες έχουν αποδείξει ότι είναι αποτελεσματικό στην καταπολέμηση παθογόνων βακτηρίων όπως *Escherichia coli*(*E.coli*), *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella aureus*(Lusby et al., 2005; Visavadia et al., 2006). Επίσης έχει τη δυνατότητα καταπολέμησης βακτηρίων ανθεκτικών σε αντιβιοτικά, όπως το ανθεκτικό σε μεθικυλλίνη *S.aureus*(*MRSA*), *β-αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους* και ανθεκτικούς στη βανκομυκίνη *εντερόκοκκους*(*VRE*).(Allen et al., 2000; Kingsley., 2001).

## 1.6. Αντιμικροβιακή δράση του μελιού

Οι επιδράσεις του μελιού στην υγεία κινούσαν ανέκαθεν το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας. Για πολλές εκατοντάδες χρόνια το μέλι χρησιμοποιούνταν για θεραπεία πληγών καθώς και για θεραπεία παθήσεων του γαστρεντερικού συστήματος(Zumla & Luat., 1989,Otaitan et al., 2007). Με την έλευση όμως των αντιβιοτικών, η κλινική εφαρμογή του μελιού μειώθηκε στη δυτική ιατρική(Kwakman et al., 2010). Η ισχυρή *in vitro* δράση του μελιού έναντι βακτηρίων ανθεκτικών στα αντιβιοτικά( Cooper et al.,2002) και η επιτυχής εφαρμογή του στη θεραπεία μολυσμένων πληγών που δεν ανταποκρίνονται στην αντιβιοτική θεραπεία(Efem., 1988), προσέελκυσε εκ νέου το ενδιαφέρον της μοντέρνας ιατρικής ως εναλλακτική θεραπεία.

Η δραστηριότητά του διαφέρει έναντι σε κάθε βακτήριο και αυτό ίσως οφείλεται στις διαφορές των φυτικών πηγών του. Χωρίζεται σε ποικιλίες που διαφοροποιούνται λόγω του τύπου του φυτού (από το οποίο συλλέγονται το νέκταρ και η γύρη), της χώρας προέλευσης καθώς και του τρόπου παραγωγής.(Carnwath et al., 2013). Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η χρήση του μελιού ενάντια σε κλινικά απομονωμένα στελέχη του *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa*, θανάτωσε τα κύτταρα που ήταν σε ελεύθερη διαβίωση, σε όλα τα στελέχη που δοκιμάστηκαν(Alandejani et al., 2009).

Προσπάθειες για τον εντοπισμό της πηγής της βακτηριοκτόνου δράσης του μελιού έχουν οδηγήσει στην ανακάλυψη μορίων όπως η μεθυλ-γλυοξάλη(Kwakman et al., 2010), ο ακριβής όμως χαρακτηρισμός των αποτελεσμάτων τους είναι δύσκολος λόγω του μεγάλου αριθμού των συστατικών και της δυνατότητας συνδυαστικών επιδράσεων(Wang et al., 2012).

Η αντιμικροβιακή δράση του μελιού οφείλεται κυρίως στην ενζυμική παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου μέσω του ενζύμου οξειδάση της γλυκόζης( Dustmann., 1979, Molan., 1992) της οξύτητάς του, της ώσμωσής του και σε άλλα συστατικά του μελιού(Anthimidou & Mossialos., 2012), όπως αρωματικά οξέα ή φαινολικές ενώσεις και πρωτεΐνες(Weston., 2000).

## Ωσμωση

Το μέλι αποτελείται κατά 83% περίπου από σάκχαρα. Σε αναλύσεις έχουν βρεθεί τουλάχιστον 22 διαφορετικά σάκχαρα. Τα σάκχαρα που συναντάμε σε πολύ μεγάλε συγκεντρώσει στο μέλι είναι οι μονοσακχαρίτες φρουκτόζη και γλυκόζη, σάκχαρα που δεν υπάρχουν στο νέκταρ ή τα μελιτώματα των φυτών, αλλά προέρχονται από την ιμβερτοποίηση(υδρόλυση) της σουκρόζης στον πρόλοβο των μελισσών. Κατά την διαδικασία παραγωγής του μελιού, οι μέλισσες εκκρίνουν το ένζυμο ιμβερτάση(invertase) από τους υποφαρυγγικούς τους αδένες, το οποίο διασπά τη σουκρόζη σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Λόγω της υψηλότερης διαλυτότητας της γλυκόζης από τη

φρουκτόζη στη θερμοκρασία κυψέλης, παράγεται ένα διάλυμα σακχάρων μεγαλύτερης συγκέντρωσης σε φρουκτόζη(Crane.,1990).

**Πίνακας 14:** Οι κύριοι υδατάνθρακες του μελιού

<i>Υδατάνθρακες</i>	<i>Μέση περιεκτικότητα (%)</i>	<i>Διακύμανση (%)</i>
<b>Φρουκτόζη</b>	39,3	21,7-53,9
<b>Γλυκόζη</b>	32,9	20,4-44,4
<b>Φρουκτόζη/Γλυκόζη</b>	1,19	1,06-1,21
<b>Σουκρόζη</b>	2,3	2,7-16
<b>Μαλτόζη και άλλοι ολιγοσακχαρίτες</b>	7,3	
<b>Άλλα ανώτερα σάκχαρα</b>	1,5	
<b>Σύνολο</b>	83,3	

## Οξύτητα

Το μέλι περιέχει έναν αριθμό 20 περίπου οργανικών οξέων, σε μέση συγκέντρωση 0,57%. Μερικά από αυτά είναι το γλυκονικό οξύ, το κιτρικό οξύ, το οξικό, το βουτυρικό, το ταρταρικό, το οξαλικό, το μαλεϊκό, το μηλικό, το μυρμηκικό κ.ά. Τα οργανικά οξέα παίζουν καθοριστικό ρόλο τόσο στην όξινη αντίδρασή του και στη γεύση του μελιού, όσο και στην αντιβακτηριακή του δράση. Το μέσο Ph του μελιού κυμαίνεται μεταξύ 3,3 και 5,9. Η ολική οξύτητα του μελιού είναι 29,12meq/kg, με την τιμή να κυμαίνεται μεταξύ 8,68 και 59,49 meq/kg και την τυπική απόκλιση να έχει τιμή 10,33meq/kg.

Από τα οργανικά οξέα που περιέχονται στο μέλι, το σημαντικότερο είναι το γλυκονικό οξύ, το οποίο παράγεται στο μέλι από την επίδραση του ενζύμου οξειδάση στη γλυκόζη, αντίδραση κατά την οποία σχηματίζεται και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Στο υπεροξείδιο του υδρογόνου και άλλες ενώσεις, όπως κάποια καρβοξυλικά οξέα, οφείλεται μεγάλο μέρος της αντιβακτηριακής δράσης που έχει το μέλι. Το γλυκονικό οξύ, επίσης,

ανάλογα με τη συγκέντρωσή του σε ένα μέλι, έχει την ιδιότητα να εντείνει τη γεύση του.

Σχήμα: Αντίδραση μετατροπής της γλυκόζης σε γλυκονικό οξύ



## Ένζυμα

Τα κύρια ένζυμα που περιέχονται στο μέλι είναι η ιμπερτάση, η γλυκοξειδάση και η διαστάση, που προέρχονται από τους υποφαρυγγικούς αδένες των μελισσών και η καταλάση και η οξική φωσφατάση που είναι φυτικής προέλευσης.

**Πίνακας 15:** Τα ένζυμα του μελιού(Crane., 1990).

Ιμπερτάση	Διασπά τη σουκρόζη σε γλυκόζη και φρουκτόζη, είναι πιο θερμοευαίσθητη από την αμυλάση Οξειδώνει τη γλυκόζη σε γλουκονικό οξύ και υπεροξείδιο του
Γλυκοξειδάση	υδρογόνου παρουσία νερού, πιο θερμοευαίσθητη από την ιμπερτάση
Διαστάση (Αμυλάση)	Διασπά το άμυλο, θερμοευαίσθητη, δεν έχει βρεθεί ο ρόλος της στην παραγωγή μελιού-πιθανόν να βοηθά στην πέψη της γύρης από τις μέλισσες
<b>Ένζυμα από τα φυτά (νέκταρ-μελιτώματα)</b>	
Καταλάση	Ρυθμίζει τη δράση της γλυκοξειδάσης με το να ελέγχει την ισορροπία του H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Οξική φωσφατάση	Υπάρχει στη γύρη, στο νέκταρ και το μέλι
Διαστάση (Αμυλάση)	Ένα μικρό ποσό αυτής προέρχεται από τα φυτά

Αναλυτικά τα ένζυμα του μελιού δρουν ως εξής(Crane.,1990; Χαριζάνης., 1996).

1. **Η ιμπερτάση(α-γλυκοσειδάση)** υδρολύει τη σουκρόζη που υπάρχει στο νέκταρ και τα μελιτώματα, σε φρουκτόζη και γλυκόζη. Ορισμένη ποσότητα αυτής παραμένει στο μέλι, κάτι που σημαίνει ότι η διάσπαση συνεχίζεται τόσο μετά την εξαγωγή μελιού όσο και κατά την αποθήκευση. Το 1986 αναφέρθηκε η ύπαρξη της β-γλυκοσειδάσης από τους Low και συνεργάτες, όμως δεν έχει διευκρινιστεί αν προέρχεται από τις μέλισσες ή τα φυτά.
2. **Η γλυκοξειδάση** δρα μόνο σε διαλυμένο ή ανώριμο μέλι και είναι πιο δραστική όταν τα σάκχαρα είναι σε συγκέντρωση 25-30%. Αυτό το ένζυμο οδηγεί στην παραγωγή του γλυκονικού οξέος, που είναι το κυρίαρχο οξύ στο μέλι, και του υπεροξειδίου του υδρογόνου( $H_2O_2$ ), ουσία για την οποία έχουμε ήδη αναφέρει τις αντιμικροβιακές της ιδιότητες. Το  $H_2O_2$  διασπάται σε νερό και οξυγόνο. Η διάσπαση και επανασύνθεσή του λαμβάνουν χώρα καθ' όλη τη διάρκεια μετατροπής του νέκταρος σε μέλι.
3. **Η διαστάση(αμυλάση)** διασπά το άμυλο. Δε φαίνεται να λαμβάνει μέρος σε χημικές διεργασίες κατά την παραγωγή μελιού. Η σημασία της στις αναλύσεις μελιού έγκειται στο γεγονός ότι είναι πολύ θερμοευαίσθητη, οπότε μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης θερμικής επεξεργασίας του μελιού, κάτι που προτάθηκε για πρώτη φορά από τον Goth το 1914.
4. **Η καταλάση**, η οποία είναι φυτικής προέλευσης και βρίσκεται στο νέκταρ και τη γύρη, διασπά το  $H_2O_2$ . Μερικά μέλια δεν περιέχουν καταλάση και ως εκ τούτου έχουν ισχυρές αντιμικροβιακές ιδιότητες. Παραδείγματα αποτελούν το μέλι από λευκό τριφύλλι(*Trifolium repens*) και το πευκόμελο(*Pinus sylvestris*).
5. **Η οξική φωσφατάση** είναι ένα ένζυμο που προέρχεται από το νέκταρ. Η δράση του στη διαδικασία παραγωγής του μελιού δεν είναι γνωστή και μάλλον η παρουσία του στο μέλι θεωρείται τυχαία.

**Φυτοχημικά συστατικά:** Τέτοια συστατικά είναι τα φαινολικά οξέα, η λυσοζύμη, τα φλαβονοειδή(Cooper et al.,1999), οι πρωτεΐνες, τα ολιγοπεπτίδια(Mundo et al., 2004) και η μέθυλ-γλυοξάλη MGO (MavricE et

al., 2008), τα οποία φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιβακτηριδιακή δράση του μελιού.

### **1.7. *Staphylococcus aureus***

Οι σταφυλόκοκκοι είναι σφαιρικά, θετικά κατά gram βακτήρια, τα οποία είναι ακίνητα και σχηματίζουν ομάδες που μοιάζουν με σταφύλια. Δημιουργούν τσαμπιά γιατί χωρίζουν σε δύο επίπεδα, σε αντίθεση με τους στενούς συγγενείς τους στρεπτόκοκκους που σχηματίζουν αλυσίδες επειδή χωρίζουν μόνο σε ένα επίπεδο. Οι αποικίες που σχηματίζονται από τον *S.aureus* είναι κίτρινες (έτσι το όνομα *aureus*, λατινικά για το χρυσό) και μεγαλώνουν σε ένα πλούσιο μέσο. Το *S.aureus* και το γένος του *Staphylococci* είναι προαιρετικά αναερόβια που σημαίνει ότι αναπτύσσονται με αερόβια αναπνοή ή ζύμωση που παράγει γαλακτικό οξύ.

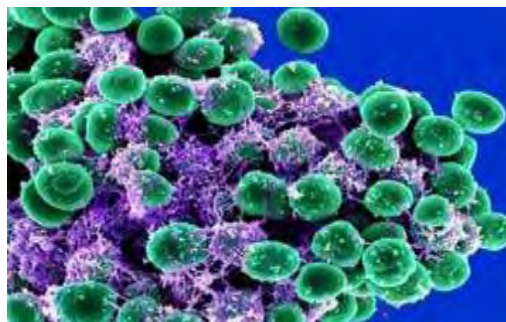
Το γονιδίωμα *S.aureus*, το οποίο είναι το πιο συνηθισμένο είδος μεταξύ των έργων γονιδιώματος *Staphylococcus*, είναι η πλέον ολοκληρωμένη αλληλουχία γονιδιώματος σε σύγκριση με οποιοδήποτε άλλο γονιδιακό είδος. Ο αρχικός χάρτης γονιδιώματος του *S.aureus* βασίστηκε στο στέλεχος *NCTC 8325*, το οποίο ξεκίνησε από τον Peter A. Pattee και συνεργάτες του. Μέχρι το 2000, ολόκληρο το γονιδίωμα του στελέχους 8325 είχε αλληλουχηθεί και επεξηγηθεί.

Ο *S.aureus* συγκαταλέγεται στα πιο κοινά παθογόνα που έχουν αποκτηθεί στο νοσοκομείο. Είναι ένας κανονικός κάτοικος του δέρματος και των βλεννογόνων στη μύτη ενός υγιούς ανθρώπου. Το *S.aureus* είναι μολυσματικό τόσο για τα ζώα όσο και για τον άνθρωπο και μπορεί να επιβιώσει μόνο σε ξηρό δέρμα. Μπορεί να εξαπλωθεί μέσω μολυσμένων επιφανειών, μέσω του αέρα και μέσω των ανθρώπων. Περίπου το 30% του υγιούς φυσιολογικού πληθυσμού επηρεάζεται από τον *S.aureus* καθώς αποικιώνεται ασυμπτωματικά στο δέρμα των ανθρώπων ξενιστών.(Microbewiki). Προκαλεί πυρετογόνες μολύνσεις (εξανθήματα), λοιμώξεις του δέρματος και των πληγών, λοιμώξεις του αναπνευστικού, σύνδρομο τοξικής καταπληξίας(TTS), τοξική επιδερμική νεκρόλυση, φλόκταινες, οστεομυελίτιδα, μηνιγγίτιδα, αρθρίτιδα. Ο *S.aureus* αποτελεί το συνηθέστερο παθογόνο σε έλκη διαβητικών. Η δυσλειτουργία των αμυντικών

μηχανισμών γύρω από τους νεκρομένους ιστούς ή μέσα στα οστά, επιτρέπει στον *S.aureus* να προκαλεί οξείες λοιμώξεις(Νικολόπουλος και συνεργάτες., 2006). Τοπική χρήση επιθεμάτων μελιού έχουν ευεργετική επίδραση στις πληγές αυτές(Molan., 1998,1999a,1999b), καθώς και σε τομές εγχείρησης(Ndayisaba et al., 1993) και εγκαύματα(Adesunkanmi et al., 1994, Efem., 1998) που έχουν προσβληθεί από το βακτήριο.

Ως παθογόνο είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τους μηχανισμούς λοιμογόνου δράσης του *S.aureus*, ιδίως του *S.aureus* ανθεκτικού στη Μεθικιλίνη(MRSA), προκειμένου να καταπολεμηθεί με επιτυχία ο παθογόνος παράγοντας. Ο αυξανόμενος πληθυσμός των «σπερματοζωαρίων» και των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά παθογόνων , έχει αυξημένη πίεση στους ερευνητές για να βρουν εναλλακτικούς, πιο αποτελεσματικούς τρόπους καταπολέμησης αυτών των «σπερματοζωαρίων». Η αλληλούχιση του DNA αυτού του μικροβίου έχει ήδη απομονώσει τον πηγαίο κώδικα της αντοχής του στα αντιβιοτικά.

Σύμφωνα με μια μελέτη των Η.Π.Α. το 2007, 880.000 άνθρωποι μολύνονταν από τον *MRSA* κάθε χρόνο. Δυστυχώς, το 5% των ατόμων με λοίμωξη από *MRSA* πεθαίνουν και ο αριθμός αυτός αντιστοιχεί σε 20.000-40.000 θανάτους το χρόνο.(KlemensR et al.,2007). Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι ο *MRSA* απέκτησε αντοχή σε όλα σχεδόν τα αντιβιοτικά και κατέκτησε ακόμη και την «τελευταία λύση» αντιβιοτικού, τη βανκομυκίνη(Hiramatsuk et al.,1997, ChangS et al., 2003). Το πιο ανησυχητικό είναι ότι πρόσφατα το *S.aureus* έχει αρχίσει να προκαλεί θανατηφόρες λοιμώξεις εκτός του νοσοκομειακού περιβάλλοντος, σε σχετικά υγιή και νεαρά άτομα.(NaimiT.S.,et al.,2003, HeroldB.C.,et al.,1998).



**Εικόνα 9:** Staphylococcus aureus, <http://diatrofikaiygeia.blogspot.gr>

## 1.8. *Pseudomonas aeruginosa*

Η *ψευδομονάς* ή *πυοκυανική* ή *αεριογόνος* (*Pseudomonas aeruginosa*) είναι είδος βακτηρίου μέλος γένους *Pseudomonas*. Είναι η πιο συχνή αιτία λοιμώξεων από *ψευδομονάδα* στον άνθρωπο. Ευθύνεται επιπλέον για αθένειες στα ζώα και φυτά. Απαντάται σε διάφορες τοποθεσίες του φυσικού περιβάλλοντος, στο έδαφος και στο νερό. Το 10% των ανθρώπων την φέρει ως μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου. Μπορεί να επιβιώσει κάτω από δυσμενείς συνθήκες για τους περισσότερους οργανισμούς, αντιστέκεται στη φαγοκυττάρωση και είναι ανθεκτικό στα περισσότερα αντιβιοτικά.

Η *P.aeruginosa* είναι ένα Gram-αρνητικό και κατά κανόνα κινητό αερόβιο βακτήριο. Δεν σχηματίζει εφησυχάζουσες μορφές και δεν παράγει σπόρους(μη σπορογόνο). Είναι βακτηρίδιο έχει δηλαδή ραβδοειδές σχήμα. Το μήκος της ράβδου του κυμαίνεται από 1-5μm και το πλάτος από 0,5-1,0μm. Εξωτερικά του κυττάρου σε μερικά στελέχη υπάρχει πολυσακχαρικό έλυτρο που το προστατεύει από την φαγοκυττάρωση και από επικίνδυνες γι' αυτό ουσίες. Τα κύτταρα του βακτηριδίου *P.aeruginosa* διατάσσονται μεμονωμένα σε ζεύγη και σε μικρές αλυσίδες. Επίσης χαρακτηρίζεται ως αμφίτριχο, διότι έχει μια μόνο βλεφαρίδα σε κάθε πόλο.

Η *P.aeruginosa* αναπτύσσεται μόνο σε αερόβιες συνθήκες και σε κοινά θρεπτικά υλικά. Ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης είναι οι 37° C μπορεί όμως να αναπτυχτεί και σε 4-43°C. Το γεγονός ότι αναπτύσσεται στους 42°C την διαφοροποιεί από τις υπόλοιπες *ψευδομονάδες*. Σημαντικό χαρακτηριστικό των αποικιών της είναι η ιδιαίτερα ευχάριστη οσμή της. Σε ορισμένες καλλιέργειες παρατηρούνται βλεννώδεις αποικίες λόγω του ελύτρου της. Άχρωμες αποικίες εντοπίζονται στο MacConkey άγαρ, γιατί δεν ζυμώνει τη λακτόζη.

Τα στελέχη της *P.aeruginosa* παράγουν οξειδάση και καταλάση, αλλά όχι υδρόθειο. Διασπούν οξειδωτικώς τη γλυκόζη, χωρίς την παραγωγή αερίου, όμως δεν τη ζυμώνουν. Αντίθετα δε διασπούν τη μαλτόζη και τη λακτόζη. Προκαλούν οξειδωτικοί διάσπαση του γλυκονικού καλίου, παράγοντας 2-κετογλυκονικό κάλιο. Στα περισσότερα στελέχη συναντάμε



κινητικότητα (90% των στελεχών) και τη δυνατότητα υδρόλυσης της αργίνης (96-98% των στελεχών). Ποσοστό μεγαλύτερο του 50% των στελεχών της παράγουν τη χρωστική πράσινη πυοκυανίνη. Σημαντικό είναι ότι από όλα τα είδη της μόνο η *P.aeruginosa* έχει αυτήν την ιδιότητα. Η πυοκυανίνη χρωματίζει τα εκκρίματα των λοιμώξεων που οφείλονται στην συγκεκριμένη ψευδομονάδα, γι' αυτό και ονομάζεται πυοκυανίνη. Στελέχη που παράγουν πυοκυανίνη χαρακτηρίζονται εύκολα *P.aeruginosa* και δεν χρειάζονται άλλες δοκιμασίες για την τυποποίηση του μικροβίου.



**Εικόνα 10:** *Pseudomonas aeruginosa*, <http://www.hhmglobal.com>

Δεν προκαλεί συνήθως ασθένειες σε υγιείς ανθρώπους. Είναι ένας ευκαιριακά παθογόνος οργανισμός. Ονομάζεται ευκαιριακός, επειδή η συμπεριφορά του εξαρτάται από τις συνθήκες. Μπορεί όμως να προκαλέσει θανατηφόρες λοιμώξεις σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, σε ασθενείς με σοβαρά εγκαύματα, με σοβαρές δερματικές βλάβες και σε ασθενείς που πάσχουν από κυστική ίνωση. Έχει ελάχιστες διατροφικές απαιτήσεις και μπορεί να ανεχθεί μια μεγάλη ποικιλία περιβαλλοντικών συνθηκών.

Η *P.aeruginosa* προκαλεί ενδονοσοκομειακές λοιμώξεις όπως ουρολοιμώξεις, μηνιγγίτιδα, σηψαιμία, πνευμονία, διαπυήσεις τραυμάτων κ.ά. Προκαλεί όμως και εξωνοσοκομειακές λοιμώξεις όπως ωτίτιδα, λοιμώξεις τραυμάτων, επιπεφυκίτιδα κ.ά. Είναι υπεύθυνη για το 16% της νοσοκομειακής πνευμονίας, το 12% των ενδονοσοκομειακών λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος, το 8% λοιμώξεων χειρουργικών τραυμάτων και το 10% λοιμώξεων του αίματος. (<http://www.cdc.gov>).

Στα ανώτερα φυτά, η *P.aeruginosa*, προκαλεί συμπτώματα (SOFT ROT) «μαλακιάς σήψης», π.χ. στο φυτό *Arabidopsis thaliana* (Thale κάρδαμο) και το *Lactuca sativa* (μαρούλι). Επίσης είναι παθογόνο για

ασπόνδυλα φυτά, όπως του νηματώδους(*aenorhabditis elegans*), τη μύγα των φρούτων *Drosophila* και τον σκόρο *Galleria mellonella*. Ο συνδυασμός των λοιμογόνων παραγόντων είναι ίδιος για την μόλυνση των φυτών και των ζώων.(<http://en.wikipedia.org>).

Σύμφωνα με έρευνες που έχουν γίνει, έχει αποδειχθεί ότι το Manuka honey καθώς και πολλά Ελληνικά μέλια αναστέλλουν την ανάπτυξη και τη δράση της *P.aeruginosa* (Anthimidou & Mossialos., 2012, Sherlock et al., 2010).

Η *P.aeruginosa* όπως και πολλά άλλα βακτήρια του γένους *Pseudomonas*, μπορεί να υποβαθμίσει τους αρωματικούς υδρογονάνθρακες, όπως τις μεθυλοβενζίνες, που είναι τα υποπροϊόντα του πετρελαίου και χρησιμοποιούνται συνήθως ως διαλύτες για σμάλτα και χρώματα, καθώς και στην παραγωγή φαρμάκων και χημικών ουσιών. Οι μεθυλοβενζίνες θεωρούνται περιβαλλοντικοί ρύποι που τις συναντάμε στην ατμόσφαιρα, στο υπέδαφος, στα εδάφη και στα επιφανειακά ύδατα. Η *P.aeruginosa* μπορεί να διασπάσει το τολουόλιο, που είναι η απλούστερη μορφή του μεθυλοβενζολίου. Αυτό γίνεται με την οξείδωση μεθυλίου σε αλδεΐδες, αλκοόλη και οξύ το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε καταχολαμίνες. Ως εκ τούτου , η *P.aeruginosa* μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της ρύπανσης.(<http://microbewiki.kenyon.edu>.)

## **2. Ο σκοπός της παρούσας πτυχιακής διατριβής**

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί η πιθανή in vitro ανθεκτικότητα ανθεκτικών στελεχών των παθογόνων βακτηρίων *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa* έναντι της αντιβακτηριακής δράσης μελιών Ολύμπου σε σχέση με το μέλι Manuka.

### **3.Πειραματικό μέρος**

#### **3.1 Υλικά**

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας ήταν:

- ✓ Θρεπτικό υλικό Nutrient Agar (Χρησιμοποιείται για στερεό θρεπτικό υπόστρωμα σε τρυβλία καθώς και για καλλιέργεια οργανισμών μη απαιτητικών σε διατροφικά στοιχεία).
- ✓ Θρεπτικό υλικό Nutrient Broth (Χρησιμοποιείται για υγρές καλλιέργειες καθώς και για καλλιέργεια οργανισμών μη απαιτητικών σε διατροφικά στοιχεία).
- ✓ Θρεπτικό υλικό Mueller Hinton Broth
- ✓ Πιπέτες
- ✓ Eppendorfs
- ✓ Γυάλινα φιαλίδια(vials)
- ✓ Τρυβλία Petri(100mm)
- ✓ Μικροπλάκες 96 θέσεων(microplates)
- ✓ Αποστειρωμένα πλαστικά φιαλίδια τύπου falcon των 50ml.

Στην παρούσα πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν τα βακτηριακά στελέχη:

- ✓ *Staphylococcus aureus*
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa*

##### **3.1.1. Δείγματα μελιών**

Τα μέλια που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονται από διάφορες περιοχές του Ολύμπου και ήταν αποθηκευμένα σε γυάλινα ή πλαστικά δοχεία σε θερμοκρασία δωματίου, σε κλειστό χώρο. Κάθε δείγμα κατείχε ένα νούμερο κωδικό και πληροφορίες για τη βοτανική του προέλευση. Εξετάστηκαν συνολικά τα εξής δείγματα μελιών.(Πίνακας 15).

**Πίνακας 16.** Δείγματα μελιών

Κωδικός δείγματος	Τύπος μελιού	Περιοχή	Παραγωγός	Ημερομηνία παραγωγής
2	Αγριοτριφύλλι, πολλά μικρά ετήσια λουλούδια	Ελασσόνα Ολύμπου	Γκρέκα Ιωάννα	-
5	-	Αρμένικο	Τσιμπλακιά ρης Κων/νος	Τρύγος Ιουλίου
7	-	Σαραντάπορο	Χατζή Μαρία	
8	Αγριοτριαντάφυλλο, ακακία, θρούμπη, μέντα, βελανιδιά, μελούρα	Κρανιά Ελασσόνας	Καραλής Νικόλαος	Ιούνιος-Ιούλιος
10	Μέλι ανθέων	Βερδικούσα Λάρισας	Σβαρνάς Αθανάσιος	-
21	Ανθέων-κωνοφόρων	Καρυάς Ολύμπου	Σαμαράς Γεώργιος	3-7-2014

Μέλι Manuka: Το μέλι Manuka που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία, για σύγκριση με τα Ελληνικά μέλια είναι της εταιρίας Manuka Health New Zealand με UMF 25+ και MGO 550.

### 3.2. Μέθοδοι

#### 3.2.1. Υγρές καλλιέργειες των *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa*

Αρχικά προετοιμάστηκαν οι καλλιέργειες των βακτηρίων, χρησιμοποιώντας καλλιέργειες (glycerol stock) που διατηρούνται στους -80°C. Στη συνέχεια, ζυγίστηκαν 21,5g Nutrient Agar και προστέθηκαν σε 1L απιονισμένο νερό ώστε να παρασκευαστούν 1000ml θρεπτικού μέσου. Πραγματοποιήθηκε πολύ καλή ανάδευση για λίγα λεπτά και ακολούθησε αποστείρωση στους 120°C για 23 λεπτά. Μετά την αποστείρωση, το διάλυμα

διατηρήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να φτάσει τους 47°C περίπου κι έπειτα τοποθετήθηκε σε αποστειρωμένα τρυβλία Petri, πριν στερεοποιηθεί. Ακολούθως, με μικροβιολογικό κρίκο και σε αποστειρωμένο περιβάλλον, έγινε επίστρωση μικρής ποσότητας βακτηρίων από την καλλιέργεια stock στα τρυβλία, υπό ασηπτικές συνθήκες. Τα τρυβλία κατόπιν τοποθετήθηκαν για επώαση σε κλίβανο στους 37°C για 24 ώρες.

Από τα βακτήρια που αναπτύχθηκαν στα τρυβλία, σε στερεή καλλιέργεια, πάρθηκε με μικροβιολογικό κρίκο και σε ασηπτικό περιβάλλον, ένα κομμάτι από τις αποικίες τους και τοποθετήθηκαν σε vials με θρεπτικό υπόστρωμα Nutrient Broth. Για να παρασκευαστούν 1000ml θρεπτικού μέσου, ζυγίστηκαν 13g Nutrient Broth και προστέθηκαν σε 1L απιονισμένο νερό. Έπειτα από αρκετά λεπτά καλής ανάδευσης, τοποθετήθηκαν 5ml του θρεπτικού μέσου σε κάθε ένα από τα μικρότερα μπουκαλάκια(vials) κι έγινε αποστείρωση στους 120°C για 23 λεπτά. Τα vials διατηρήθηκαν στο ψυγείο στους 4°C. Έτσι το vial με τη μικρή ποσότητα βακτηρίων(υγρή καλλιέργεια), τοποθετήθηκε σε επωαστήρα υπό ανάδευση (incubatorshaker) για 24 ώρες στους 37°C στις 210 στροφές.

### **3.2.2. Μέθοδος προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC)**

#### **3.2.2.1. Αρχή της μεθόδου**

Η in vitro μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης(MIC) πραγματοποιήθηκε σε αποστειρωμένες μικροπλάκες (microplates) πολυστερίνης 96 θέσεων(96 wells) η κάθε μια. Για τη δοκιμασία της μεθόδου η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι αυτή που αναγράφεται στη βιβλιογραφία(ThomasPatton et al.,2005, Sherlock et al., 2010). Για τις υγρές καλλιέργειες, ως MIC ορίζεται η χαμηλότερη συγκέντρωση του αντιμικροβιακού παράγοντα, στην οποία δεν ανιχνεύεται καμία αύξηση, παρατηρείται δηλαδή 100% αναστολή της ανάπτυξης του υπό εξέταση οργανισμού.(Sherlock et al., 2010).

Ο microplaterreader, στον οποίο τοποθετήθηκαν οι μικροπλάκες, είναι συνδεδεμένος με έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή για τη μέτρηση της

βακτηριακής ανάπτυξης. Η ανάλυση των οπτικών απορροφήσεων των καλλιέργειών έγινε με το λογισμικό Gen5™ Data Analysis Software (Biotek).

### 3.2.2.2. Πειραματική διαδικασία

Αρχικά, χρησιμοποιώντας καλλιέργειες (glycerostock) που διατηρούνται στους  $-80^{\circ}\text{C}$ . Στη συνέχεια, πάρθηκε μια μικρή ποσότητα βακτηρίων από το stock, με μικροβιολογικό κρίκο και σε αποστειρωμένο περιβάλλον, που τοποθετήθηκαν σε vials τα οποία περιείχαν 5ml θρεπτικού υποστρώματος Mueller Hinton Broth. Τα vials τοποθετήθηκαν σε επωαστήρα υπό ανάδευση στους  $37^{\circ}\text{C}$  για 16 ώρες στις 210 στροφές/min. Έπειτα παρασκευάστηκε μικροβιακό εναιώρημα, θολερότητας ίσης με 0,5 MacFarland (περίπου  $1,5 \cdot 10^8 \frac{\text{cfu}}{\text{ml}}$ ), από τις καλλιέργειες οι οποίες αραιώθηκαν. Η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας (OD) στα 600nm, έγινε μέχρι να πετύχουμε τιμή 0,132 η οποία αντιστοιχεί σε 0,5 FacFarland (περίπου  $1,5 \cdot 10^8 \frac{\text{cfu}}{\text{ml}}$ ).

Για τον *Staphylococcus aureus* όπως και για την *Pseudomonas aeruginosa* χρησιμοποιήθηκαν από 3 δείγματα μελιών για το καθένα, τα οποία δοκιμάστηκαν όλα σε 7 διαφορετικές διαδοχικές αραιώσεις (50% v/v, 25% v/v, 12,5% v/v, 6,25% v/v, 3,125% v/v, 1,5% v/v, 0,78% v/v) για τον προσδιορισμό της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης.

Στην πλάκα μικροτιτλοποίησης, το κάθε μέλι (συμπεριλαμβανομένου και του Manuka), χρησιμοποιήθηκε εις τριπλούν, σε 7 πηγαδάκια. Στο καθένα από αυτά προστέθηκε 190μl από την αραιώση του εκάστοτε υπό εξέταση μελιού διαδοχικά και  $5 \cdot 10^4$  CFUs καλλιέργειας. Σε μια σειρά με 7 πηγαδάκια προστέθηκαν διαδοχικά 190μl Mueller Hinton Broth και  $5 \cdot 10^4$  CFUs καλλιέργειας (control).

Κατόπιν, στο φασματοφωτόμετρο ELx808 Absorbance Microplate Reader, όπου τοποθετήθηκε η μικροπλακέτα, έγινε η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας (OD) στα 630nm για χρόνο  $t=0$ . Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν και καταγράφηκαν από το λογισμικό Gen5™ Data Analysis Software. Έπειτα η μικροπλακέτα τοποθετήθηκε στον επωαστήρα στους  $37^{\circ}\text{C}$

για 24 ώρες. Την επόμενη μέρα πραγματοποιήθηκε ξανά ανάγνωση από το φασματοφωτόμετρο ELx808 στα 630nm για χρόνο t=24.

Ακολούθησε η σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο μετρήσεων από όπου προσδιορίστηκε η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση στην οποία δεν υπήρξε βακτηριακή ανάπτυξη με βάση τα εξής:

Η οπτική πυκνότητα(OD) για το κάθε πηγαδάκι προκύπτει από την αφαίρεση της μέτρησης για t=24 μείον τη μέτρηση για t=0. Δηλαδή,

$$OD_{testwell}=T_{24test}-T_{0test}$$

Και

$$OD_{ofcorrespondingcontrolwell}=T_{24test}-T_{0test}$$

Η αναστολή της ανάπτυξης για το κάθε δείγμα μελιού υπολογίζεται με τον ακόλουθο τύπο:

$$100\% \text{ΑΝΑΣΤΟΛΗ} = 1 - \left( \frac{OD_{testwell}}{OD_{ofcorrespondingcontrolwell}} \right) \times 100$$

(ThomasPatton et al.,2005).

Η εξέταση όλων των δειγμάτων έγινε εις τριπλούν για το κάθε μέλι και για κάθε συγκέντρωση.

### **3.2.3. Διερεύνηση της ανθεκτικότητας βακτηρίων κλινικής σημασίας έναντι δειγμάτων μελιού, με βραχυπρόθεσμη έκθεση υπό σταθερές συγκεντρώσεις μελιού.**

#### **3.2.3.1. Αρχή της μεθόδου**

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, έγινε προσδιορισμός της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης MIC ως εξής: πραγματοποιήθηκε βραχυπρόθεσμη έκθεση συγκεκριμένων δειγμάτων μελιού, σταθερής συγκέντρωσης, για 12 συνεχόμενες ημέρες.

Έπειτα έγινε διερεύνηση της παροδικής ή μόνιμης φύσης της ανθεκτικότητας των κλινικών στελεχών *S.aureus* και *P.aeruginosa* έναντι συγκεκριμένων μελιών αφού ολοκληρώθηκε η έκθεσή τους για 12

συνεχόμενες ημέρες, χρησιμοποιώντας τα δείγματα για ανακαλλιέργεια 10 ημερών.

### 3.2.3.2. Πειραματική διαδικασία

Αρχικά προετοιμάστηκαν οι υγρές καλλιέργειες των βακτηρίων *S.aureus* και *P.aeruginosa* σύμφωνα με την πρώτη μέθοδο που αναφέρθηκε παραπάνω. Έπειτα τοποθετήθηκαν 5ml θρεπτικού μέσου Nutrient Broth με 3% v/v δείγμα μελιού σε ένα αποστειρωμένο πλαστικό φιαλίδιο τύπου falcon και εμβολιάστηκαν με 50ml από την υγρή καλλιέργεια του *S.aureus* που είχαν ετοιμαστεί πριν από 24 ώρες και σε ένα άλλο falcon τοποθετήθηκαν αντίστοιχα 5ml θρεπτικού μέσου Nutrient Broth με 5% από την υγρή καλλιέργεια της *P.aeruginosa*. Τα falcon αυτά τοποθετήθηκαν για επώαση στους 37°C για 24 ώρες στις 210 στροφές/min.

Η μέθοδος αυτή πραγματοποιήθηκε για 12 συνεχόμενες ημέρες. Κάθε ημέρα προστίθονταν 50 μl από την καλλιέργεια που αναπτύχθηκε στο falcon της προηγούμενης ημέρας σε ένα νέο που περιείχε το θρεπτικό μέσο Nutrient Broth και την αντίστοιχη συγκέντρωση δείγματος μελιού για κάθε βακτήριο. Με τον τρόπο αυτό (ανακαλλιέργεια), εκπαιδεύτηκαν τα βακτήριά μας στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις δείγματος μελιού.

Για τον *Staphylococcus aureus* πραγματοποιήθηκε ανακαλλιέργεια σε 3 δείγματα μελιών και για τη *Pseudomonas aeruginosa* σε 3 δείγματα επίσης. Το ίδιο και για το μέλι *Manuka* και για τα δύο βακτήρια, σε δύο ανεξάρτητα πειράματα μέτρησης.

Έπειτα προσδιορίστηκε η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση MIC για τα δείγματα όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Όλα τα δείγματα εξετάστηκαν εις τριπλούν για το κάθε μέλι και για κάθε συγκέντρωση.

Στη συνέχεια, αφού πραγματοποιήθηκε έκθεση των βακτηρίων έναντι των μελιών για 12 συνεχόμενες ημέρες, διερευνήθηκε η παροδική ή μόνιμη φύση της ανθεκτικότητάς τους, ανακαλλιεργώντας τα δείγματα 10 διαδοχικές ημέρες χωρίς όμως αυτή τη φορά παρουσία μελιού. Δηλαδή, τοποθετήθηκαν 5ml θρεπτικού μέσου Nutrient Broth σε ένα αποστειρωμένο



πλαστικό φιαλίδιο τύπου falcon, στο οποίο ενοφθαλμίσαμε με 50μl την καλλιέργεια του *S.aureus* που είχε εκτεθεί σε σταθερές συγκεντρώσεις μελιού και σε ένα άλλο falcon τοποθετήθηκαν 5ml θρεπτικού μέσου Nutrient Broth ενοφθαλμίζοντας με 50μl την καλλιέργεια της *P.aeruginosa* που είχε εκτεθεί σε σταθερές συγκεντρώσεις μελιού. Ακολούθησε επώαση των falcon στους 37°C για 24 ώρες στις 210 στροφές/min.

Η ανακαλλιέργεια πραγματοποιήθηκε για 10 διαδοχικές ημέρες, με την προσθήκη μόνο των 50μl από την καλλιέργεια που αναπτύχτηκε στο falcon της προηγούμενης ημέρας σε ένα νέο και του θρεπτικού μέσου Nutrient Broth.

Τελικά προσδιορίστηκε η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση MIC για τα δείγματα όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

### **3.2.4. Διερεύνηση της ανθεκτικότητας βακτηρίων κλινικής σημασίας έναντι δειγμάτων μελιού, με βραχυπρόθεσμη έκθεση, σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις μελιού.**

#### **3.2.4.1. Αρχή της μεθόδου**

Έπειτα από βραχυπρόθεσμη έκθεση που πραγματοποιήθηκε σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις συγκεκριμένων δειγμάτων μελιού για 12 συνεχόμενες ημέρες, προσδιορίστηκε η ελάχιστη συγκέντρωση MIC.

Κατόπιν διερευνήθηκε η παροδική ή μόνιμη φύση της ανθεκτικότητας των κλινικών στελεχών *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa* έναντι των συγκεκριμένων μελιών αφού προηγήθηκε η έκθεσή τους για 12 συνεχείς ημέρες, χρησιμοποιώντας τα δείγματα για ανακαλλιέργεια 10 ημερών.

#### **3.2.4.2. Πειραματική διαδικασία**

Σύμφωνα με την πρώτη μέθοδο που αναφέρθηκε πιο πάνω, προετοιμάστηκαν οι υγρές καλλιέργειες των βακτηρίων *S.aureus* και *P.aeruginosa*. Σε ένα αποστειρωμένο πλαστικό φιαλίδιο τύπου falcon, τοποθετήθηκαν 5ml θρεπτικού μέσου Nutrient Broth με 1%v/v δείγμα μελιού και εμβολιάστηκαν με 50μl από την υγρή καλλιέργεια του *S.aureus* που

είχαν ετοιμαστεί πριν 24 ώρες και σε ένα άλλο falcon τοποθετήθηκαν αντίστοιχα 5ml θρεπτικού μέσου Nutrient Broth με 2% v/v δείγμα μελιού και εμβολιάστηκαν με 50 μl από την υγρή καλλιέργεια της *P.aeruginosa*. Έπειτα, τα falcon επωάστηκαν στους 37°C για 24 ώρες στις 210 στροφές/min

Η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε για 12 συνεχείς ημέρες. Καθημερινά προστίθονταν 50μl από την καλλιέργεια που αναπτύχτηκε στο falcon της προηγούμενης ημέρας σε ένα νέο, το οποίο περιείχε το θρεπτικό μέσο Nutrient Broth και την αντίστοιχη συγκέντρωση δείγματος μελιού για κάθε βακτήριο αυξάνοντας τη συγκέντρωση κάθε μέρα κατά 0,5%v/v και για τα δύο βακτήρια.

Για τον *S.aureus*, πραγματοποιήθηκε η διαδικασία αυτή σε 3 δείγματα μελιών και για την *P.aeruginosa* σε άλλα 3 δείγματα αντίστοιχα, όπως και το μέλι Manuka και για τα δύο βακτήρια, σε δύο ανεξάρτητα πειράματα μέτρησης.

Τέλος, για τα δείγματα αυτά προσδιορίστηκε η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Όλα τα δείγματα εξετάστηκαν εις τριπλούν για το κάθε μέλι και για κάθε συγκέντρωση.

Κατόπιν διερευνήθηκε η παροδική ή μόνιμη φύση της ανθεκτικότητας βακτηρίων έναντι των μελιών αφού πραγματοποιήθηκε έκθεσή τους για 12 διαδοχικές ημέρες, ανακαλλιεργώντας τα δείγματα 10 συνεχών ημερών χωρίς όμως την παρουσία μελιού. Δηλαδή, σε ένα αποστειρωμένο πλαστικό φιαλίδιο τύπου falcon τοποθετήθηκαν 5ml θρεπτικού μέσου Nutrient Broth ενοφθαλμίζοντας με 50μl την καλλιέργεια του *S.aureus* που είχε εκτεθεί σε σταθερές συγκεντρώσεις μελιού και σε ένα άλλο falcon τοποθετήθηκαν 5ml θρεπτικού μέσου Nutrient Broth ενοφθαλμίζοντας με 50μl την καλλιέργεια της *P.aeruginosa* που είχε εκτεθεί σε σταθερές συγκεντρώσεις μελιού. Στη συνέχεια τα falcon επωάστηκαν στους 37°C για 24 ώρες στις 210 στροφές/min.

Η ανακαλλιεργεια πραγματοποιήθηκε για 10 διαδοχικές ημέρες, με την προσθήκη μόνο των 50μl από την καλλιέργεια που αναπτύχτηκε στο falcon της προηγούμενης ημέρας σε ένα νέο και του θρεπτικού μέσου Nutrient Broth.

Τελικά, προσδιορίστηκε η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση MIC για τα δείγματα, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. (3.2.2.2.).

## 4. Αποτελέσματα

### 4.1.Προσδιορισμός της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης(minimum inhibitory concentration).

Αρχικά προσδιορίστηκε η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση των μελιών, η οποία αναστέλλει πλήρως την ανάπτυξη των *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa*. Σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα για τον *S.aureus* τα μέλια με No **2,7,8,21** έδωσαν την ίδια τιμή MIC με αυτή του Manuka 25+ (control) δηλαδή 6,25% v/v. Το μέλι με No **5** έδωσε μεγαλύτερη τιμή MIC από αυτή του Manuka, ίση με 12,5% v/v ενώ το μέλι με No **10** έδωσε μικρότερη τιμή MIC από αυτή του Manuka, ίση με 3,125% v/v.

Αντίστοιχα, για την *Pseudomonas aeruginosa* τα μέλια με No **2,5,7** έδωσαν την ίδια τιμή MIC με αυτή του Manuka 25+ δηλαδή 12,5%v/v. Τα μέλια με No **8,10,21** έδωσαν μικρότερη τιμή MIC ίση με 6,25%v/v.

**Πίνακας 17.** Αποτελέσματα μετρήσεων MIC έναντι του *Staphylococcus aureus* και της *Pseudomonas aeruginosa*.

No Μέλι	Τύπος Μελιού	MIC S.aureus	MIC P.aeruginosa
<b>2</b>	Αγριοτριφύλλι,πολλά μικρά ετήσια λουλούδια	6,25	12,5
<b>5</b>		12,5	12,5
<b>7</b>	-	6,25	12,5
<b>8</b>	Αγριοτριαντάφυλλο,ακακία,θρούμπη, μέντα, βελανιδιά,μελούρας	6,25	6,25
<b>10</b>	Μέλι ανθέων	3,125	6,25
<b>21</b>	Μέλι ανθέων, κωνοφόρων	6,25	6,25
<b>Manuka</b>		6,25	12,5

#### 4.2. Προσδιορισμός της ανθεκτικότητας βακτηρίων κλινικής σημασίας έναντι δειγμάτων μελιού, με βραχυπρόθεσμη έκθεση υπό σταθερές συγκεντρώσεις μελιού.

Προσδιορίζεται η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση των μελιών, μετά τη βραχυπρόθεσμη έκθεση των *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa* σε σταθερές συγκεντρώσεις δειγμάτων μελιών.

Παρατηρώντας τον παρακάτω πίνακα διαπιστώνεται πως τα μέλια με **No 5, 21** και **Manuka** μετά τη βραχυπρόθεσμη έκθεση του *S.aureus* σε σταθερή συγκέντρωση μελιού, δεν έδωσαν διαφορετική τιμή MIC από αυτή που μετρήσαμε αρχικά(χωρίς κάποιο είδος έκθεσης στο μέλι).Άρα δεν υπάρχει ένδειξη ανθεκτικότητας του *S.aureus* ως προς αυτά τα μέλια.

Η έκθεση του *S.aureus* σε σταθερή συγκέντρωση μελιού με **No 2** και **No 8** οδήγησε στην ανθεκτικότητά του, καθώς παρατηρήθηκε αύξηση της τιμής MIC σε σχέση με την αρχική. Η ανθεκτικότητα αυτή φαίνεται όμως να χάνεται, καθώς η τιμή MIC, επανήλθε στα αρχικά επίπεδα μετά το τέλος της ανακαλλιέργειας των 10 ημερών απουσία μελιού. Αντίθετα παρατηρείται ότι τα μέλια με **No 7** και **No 10** οδήγησαν στη μόνιμη ανθεκτικότητα του βακτηρίου, καθώς αυξήθηκε η τιμή MIC και η οποία διατηρήθηκε και μετά το πέρας της ανακαλλιέργειας των 10 ημερών απουσία μελιού.

**Πίνακας 18:** Αποτελέσματα μετρήσεων MIC του *Staphylococcus aureus* μετά την βραχυπρόθεσμη έκθεσή του σε σταθερές συγκεντρώσεις δειγμάτων μελιού και της παροδικής ή μόνιμης φύσης της ανθεκτικότητάς του.

Με πράσινο χρώμα : Το MIC των βακτηρίων παραμένει σταθερό

Με κόκκινο χρώμα : Το MIC των βακτηρίων αυξάνεται μόνιμα

Με κίτρινο χρώμα: Το MIC των βακτηρίων αυξάνεται παροδικά

No Μέλια	MIC <i>S.aureus</i>	MIC ύστερα από έκθεση σε σταθερές συγκεντρώσεις μελιού	MIC από έλεγχο παροδικής ή μόνιμης ανθεκτικότητας(απουσία μελιού)
2	6,25	12,5	6,25
5	12,5	12,5	12,5
7	6,25	12,5	12,5
8	6,25	12,5	6,25
10	3,125	6,25	6,25
21	6,25	6,25	6,25
Manuka	6,25	6,25	6,25

Όσον αφορά τα μέλια με **No 5**, **No 21** και **Manuka**, μετά την βραχυπρόθεσμη έκθεση της *Pseudomonas aeruginosa* σε σταθερή συγκέντρωση μελιού, δεν έδωσαν διαφορετική τιμή MIC από αυτή που μετρήσαμε αρχικά. Άρα δεν υπάρχει ένδειξη ανθεκτικότητας της *P.aeruginosa* ως προς αυτά τα μέλια.

Η έκθεση της *P.aeruginosa* σε σταθερή συγκέντρωση των μελιών με **No 7** και **No 10** οδήγησε στη μόνιμη ανθεκτικότητα του βακτηρίου, καθώς αυξήθηκε η τιμή MIC και η οποία διατηρήθηκε και μετά το πέρας της ανακαλλιέργειας των 10 ημερών απουσία μελιού. Αντίθετα στα μέλια **No 2** και **No 8** οδήγησε στην ευαισθητοποίησή της, καθώς παρατηρήθηκε αύξηση της τιμής MIC σε σχέση με την αρχική. Η ευαισθητοποίηση αυτή, φαίνεται

όμως να χάνεται καθώς η τιμή MIC επανήλθε στα αρχικά επίπεδα μετά το τέλος της ανακαλλιέργειας των 10 ημερών απουσία μελιού.

**Πίνακας 19:** Αποτελέσματα μετρήσεων MIC της *Pseudomonas aeruginosa* μετά τη βραχυπρόθεσμη έκθεσή της σε σταθερές συγκεντρώσεις δειγμάτων μελιού και της παροδικής ή μόνιμης φύσης της ανθεκτικότητάς της.

Με πράσινο χρώμα : Το MIC των βακτηρίων παραμένει σταθερό

Με κόκκινο χρώμα: Το MIC βακτηρίων αυξάνεται μόνιμα

Με κίτρινο χρώμα: Το MIC των βακτηρίων αυξάνεται παροδικά

No Μέλια	MIC <i>P.aeruginosa</i>	MIC ύστερα από έκθεση σε σταθερή συγκέντρωση μελιού	MIC ύστερα από έλεγχο παροδικής ή μόνιμης ανθεκτικότητας(απουσία μελιού)
2	12,5	25	12,5
5	12,5	12,5	12,5
7	12,5	25	25
8	6,25	12,5	6,25
10	6,25	12,5	12,5
21	6,25	6,25	6,25
Manuka	12,5	12,5	12,5

#### 4.3. Προσδιορισμός της ανθεκτικότητας βακτηρίων κλινικής σημασίας έναντι δειγμάτων μελιού, με βραχυπρόθεσμη έκθεση σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις μελιού.

Προσδιορίστηκε η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση των μελιών μετά τη βραχυπρόθεσμη έκθεση των και σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις δειγμάτων μελιού.

Όπως παρατηρείται στον ακόλουθο πίνακα, τα μέλια **No 5**, **No 21** και **Manuka** μετά τη βραχυπρόθεσμη έκθεση του *Staphylococcus aureus* σε

σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις μελιού, δεν έδωσαν διαφορετική τιμή MIC από αυτή που μετρήσαμε αρχικά(χωρίς κάποιο είδος έκθεσης στο μέλι). Άρα δεν υπάρχει ένδειξη ανθεκτικότητας του *S.aureus* σε αυτά τα μέλια.

Η έκθεση του *S.aureus* σε σταθερά αυξανόμενες συγκεντρώσεις των μελιών με **No 2** και **No 8** οδήγησε στην παροδική ανθεκτικότητα του βακτηρίου καθώς αυξήθηκε η τιμή MIC, η οποία όμως φαίνεται να χάνεται, καθώς η τιμή MIC επανήλθε στα αρχικά επίπεδα μετά το τέλος της ανακαλλιέργειας των 10 ημερών απουσία μελιού. Ενώ η έκθεση του *S.aureus* σε σταθερά αυξανόμενες συγκεντρώσεις των μελιών με **No 7** και **No 10** οδήγησε σε μόνιμη ανθεκτικότητα του βακτηρίου καθώς αυξήθηκε η τιμή MIC και η οποία διατηρήθηκε και μετά το πέρας της ανακαλλιέργειας των 10 ημερών απουσία μελιού.

**Πίνακας 20:** Αποτελέσματα μετρήσεων MIC του *Staphylococcus aureus* μετά τη βραχυπρόθεσμη έκθεσή του σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις μελιού και της παροδικής ή μόνιμης φύσης της ανθεκτικότητάς της.

Με πράσινο χρώμα: Το MIC των βακτηρίων παραμένει σταθερό

Με κόκκινο χρώμα: Το MIC των βακτηρίων αυξάνεται μόνιμα

Με κίτρινο χρώμα: Το MIC των βακτηρίων αυξάνεται παροδικά

No Μέλια	MIC <i>S.aureu</i> <i>s</i>	MIC ύστερα από έκθεση σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις μελιού	MIC ύστερα από έλεγχο παροδικής ή μόνιμης ανθεκτικότητας(απουσία μελιού)
2	6,25	12,5	6,25
5	12,5	12,5	12,5
7	6,25	12,5	12,5
8	6,25	12,5	6,25
10	3,125	6,25	6,25
21	6,25	6,25	6,25
Manuka	6,25	6,25	6,25

Αντίστοιχα για την *Pseudomonas aeruginosa* όπως παρατηρείται στον πίνακα 19, η έκθεσή της σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις των μελιών με **No 5**, **No 21** και **Manuka**, δεν έδωσαν διαφορετική τιμή MIC από αυτή που μετρήσαμε αρχικά(χωρίς κάποιο είδος έκθεσης στο μέλι). Άρα δεν υπάρχει ένδειξη ανθεκτικότητας της *P.aeruginosa* ως προς αυτά τα μέλια.

Η έκθεση της *P.aeruginosa* σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις των μελιών με **No 2** και **No 8** οδήγησε στην παροδική ανθεκτικότητα του βακτηρίου καθώς αυξήθηκε η τιμή MIC, η οποία όμως επανήλθε στα αρχικά επίπεδα μετά το τέλος της ανακαλλιέργειας των 10 ημερών απουσία μελιού. Ενώ η έκθεση του βακτηρίου σε σταθερά αυξανόμενες συγκεντρώσεις των μελιών **No 7** και **No 10** οδήγησε σε μόνιμη ανθεκτικότητα του βακτηρίου καθώς αυξήθηκε η τιμή MIC και η οποία διατηρήθηκε και μετά το τέλος της ανακαλλιέργειας των 10 ημερών απουσία μελιού.

**Πίνακας 21:** Αποτελέσματα μετρήσεων MIC της *Pseudomonas aeruginosa* μετά τη βραχυπρόθεσμη έκθεσή της σε σταθερές συγκεντρώσεις δειγμάτων μελιού και της παροδικής ή μόνιμης φύσης της ανθεκτικότητας

**Πράσινο:** Το MIC των βακτηρίων παραμένει σταθερό

**Κόκκινο:** Το MIC των βακτηρίων αυξάνεται μόνιμα

**Κίτρινο:** Το MIC των βακτηρίων αυξάνεται παροδικά

No Μέλια	MIC <i>P.aeruginos</i> <i>a</i>	MIC ύστερα από έκθεση σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις μελιού	MIC ύστερα από έλεγχο παροδικής ή μόνιμης ανθεκτικότητας(απουσία μελιού)
<b>2</b>	12,5	25	12,5
<b>5</b>	12,5	12,5	12,5
<b>7</b>	12,5	25	25
<b>8</b>	6,25	12,5	6,25
<b>10</b>	6,25	12,5	12,5
<b>21</b>	6,25	6,25	6,25
<b>Manuka</b>	12,5	12,5	12,5



## 6. Συζήτηση

Η χρήση των αντιβιοτικών για την αντιμετώπιση λοιμώξεων οδήγησε στην εξάπλωση ανθεκτικών βακτηρίων με αποτέλεσμα να είναι αναγκαία όσο ποτέ η εύρεση εναλλακτικών θεραπειών. Η χρήση του μελιού αποτελεί μια τέτοια θεραπεία, καθώς βοηθά στην επούλωση πληγών, εγκαυμάτων κι έχει γίνει ιδιαίτερα γνωστό για την αντιμικροβιακή του δράση.(Alandejani et al., 2009, Wang et al.,2012). Συγκεκριμένα, πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η χρήση του μελιού ενάντια σε κλινικά απομονωμένα στελέχη του *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa*, θανάτωσε τα κύτταρα που ήταν σε ελεύθερη διαβίωση, σε όλα τα στελέχη που δοκιμάστηκαν.(Alanndejani et al., 2012). Αυτό που το καθιστά ιδιαίτερα σημαντικό είναι η ικανότητά του να σκοτώνει τα βακτήρια ακόμη και στην πιο ανθεκτική κατάσταση των βιοϋμένων τους, με αποτέλεσμα να αποδεικνύεται εξαιρετικά αποτελεσματικό στην αντιμετώπιση λοιμώξεων.(Wang et al., 2012).

Η αντιμικροβιακή δράση του μελιού οφείλεται κυρίως στο υπεροξείδιο του υδρογόνου, σε αντιμικροβιακές πρωτεΐνες ή ολιγοπεπτίδια και στη συγκέντρωση των σακχάρων του(Kwakman et al., 2010,Molan., 1999).

Το μέλι Manuka έχει εγκριθεί για ιατρική χρήση σε επουλώσεις πληγών και έλκων λόγω της ισχυρής αντιμικροβιακής του δράσης. Ο εντοπισμός της πηγής της βακτηριοκτόνου δράσης του μελιού έχει οδηγήσει στην ανακάλυψη μορίων όπως η μέθυλ-γλυοξάλη(Kwakman et al., 2010).

Ο προβληματισμός όμως που δημιουργείται είναι εάν η χρήση του μελιού ως εναλλακτική θεραπεία στην αντιμετώπιση ανθεκτικών βακτηρίων , οδηγήσει τελικά στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας ανάλογης με αυτή που παρουσιάζουν τα βακτήρια ενάντια στα αντιβιοτικά.

Στη παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η πιθανή ανθεκτικότητα κάποιων παθογόνων βακτηρίων και συγκεκριμένα ανθεκτικών στελεχών *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa* έναντι της αντιβακτηριακής δράσης μελιών του Ολύμπου, συγκρινόμενα με το μέλι Manuka. Με τη μέθοδο προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης(minimum inhibitory concentration) έγινε διερεύνηση της ανθεκτικότητας βακτηρίων

κλινικής σημασίας έναντι δειγμάτων μελιού, με βραχυπρόθεσμη έκθεση υπό σταθερές συγκεντρώσεις μελιού και με σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις μελιού για 12 συνεχείς ημέρες και εκτίμηση της αντιμικροβιακής δράσης των μελιών χωρίς κάποιο είδος έκθεσης των βακτηρίων στο μέλι. Έπειτα έγινε διερεύνηση της παροδικής ή μόνιμης φύσης της ανθεκτικότητας των κλινικών στελεχών *S.aureus* και *P.aeruginosa* έναντι συγκεκριμένων μελιών μετά το τέλος της έκθεσής τους για 12 συνεχείς ημέρες, χρησιμοποιώντας τα βακτήρια που εκτέθηκαν στο μέλι για ανακαλλιέργεια 10 ημερών απουσία μελιού.

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων συνοψίζονται στις εξής κατηγορίες:

- Υπό **σταθερή συγκέντρωση μελιού** ανάλογα με την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση(MIC) έναντι βακτηρίων *Staphylococcus aureus*.
  - α) Ανάπτυξη μόνιμης ανθεκτικότητας βακτηρίων έναντι των μελιών με **No 7 και 10.**
  - β) Ανάπτυξη παροδικής ανθεκτικότητας βακτηρίων έναντι των μελιών με **No 2 και 8.**
  - γ) Δεν ανέπτυξαν ανθεκτικότητα τα βακτήρια έναντι των μελιών με **No 5 και 21.**
- Υπό **σταθερή συγκέντρωση μελιού** ανάλογα με την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) έναντι βακτηρίων *Pseudomonas aeruginosa*.
  - α) Ανάπτυξη μόνιμης ανθεκτικότητας βακτηρίων έναντι των μελιών με **No 7 και 10.**
  - β) Ανάπτυξη παροδικής ανθεκτικότητας βακτηρίων έναντι των μελιών με **No 2 και 8.**
  - γ) Δεν ανέπτυξαν ανθεκτικότητα τα βακτήρια έναντι των μελιών με **No 5 και 21.**
- Υπό **αυξανόμενη συγκέντρωση μελιού** ανάλογα με την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση(MIC) έναντι βακτηρίων *Staphylococcus aureus*.
  - α) Μόνιμη ανθεκτικότητα ανέπτυξαν τα βακτήρια έναντι των μελιών με **No 7 και 10.**

- β) Παροδική ανθεκτικότητα ανέπτυξαν τα βακτήρια έναντι των μελιών με No 2 και 8.
- γ) Δεν ανέπτυξαν ανθεκτικότητα τα βακτήρια έναντι των μελιών με No 5 και 21.
- Υπό αυξανόμενη συγκέντρωση μελιού ανάλογα με την ελαχιστη ανασταλτική συγκέντρωση(MIC) έναντι βακτηρίων *Pseudomonas aeruginosa*.
  - α) Ανάπτυξη μόνιμης ανθεκτικότητας βακτηρίων παρατηρήθηκε έναντι των μελιών με No 7 και 10.
  - β) Παροδική ανθεκτικότητα παρουσίασαν τα βακτήρια έναντι των μελιών με No 2 και 8.
  - γ) Δεν παρουσίασαν ανθεκτικότητα τα βακτήρια έναντι των μελιών με No 5 και 21.

Συμπερασματικά, στην παρούσα μελέτη παρατηρείται ότι:

- I. Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας έναντι των μελιών που μελετήθηκαν είναι το ίδιο πιθανή και για τον *S.aureus* όσο και για την *P.aeruginosa*.
- II. Είναι πολύ σημαντικό στην κλινική πρακτική η χρήση του μελιού να γίνεται στη σωστή συγκέντρωση(ίση ή μεγαλύτερη της MIC) ώστε να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα ανθεκτικότητας.
- III. Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας βακτηριακών στελεχών είναι πιο πιθανή έναντι μελιών με ισχυρή αντιμικροβιακή δράση(π.χ.No 7 και No 10).

## 7. Βιβλιογραφία

### Ελληνική

1. Γούναρη, Σ.(2004) Η ωφελιμότητα των προϊόντων της μέλισσας στον άνθρωπο. Πρακτικά του 2ου Επιστημονικού Συνεδρίου Μελισσοκομίας-Σηροτροφίας, Αθήνα 21-23 Μάιος 2004, σελ.29-36.
2. Δερματόπουλος, Β.,(1949) Βασικές γνώσεις σύγχρονης μελισσοκομίας. Έκδοση Μελισσοκομικού Συνεταιρισμού Θεσσαλονίκης.σελ.40-41.
3. Ζερφυρίδης, Γ.,(1998). Διατροφή του ανθρώπου. Τέταρτη έκδοση. Εκδόσεις Γιαχούδη. Θεσσαλονίκη, Ελλάδα.
4. Θρασυβούλου, Α., Μανίκης, Ι.,(1990) Κατηγορίες Ελληνικού μελιού. Μελισσοκομική Επιθεώρηση 4(6).σελ.158-160.
5. Θρασυβούλου,Α., (1998).Πρακτική Μελισσοκομία. Εκδόσεις Μελισσοκομική Επιθεώρηση, Ν. Παππάς, Μεσημέρι Θεσσαλονίκης,σελ.255.
6. Θρασυβούλου, Ανδρέας.,(2001). Πρακτική Μελισσοκομία. Θεσσαλονίκη,σελ.11-12,25-26,149-195.
7. Θρασυβούλου, Α.,Μανίκης, Ι.,Τανανάκη, Χ., Τσέλλιος., Καραμπουρνιώτη, Σ., και Δήμου, Μ.,(2002). Η ταυτότητα του ελληνικού μελιού. Α. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά που στηρίζουν την ποιότητα του προϊόντος. Πρακτικά του 1<sup>ου</sup> Επιστημονικού Συνεδρίου Μελισσοκομίας-Σηροτροφίας., Αθήνα 29 Νοεμβρίου-1 Δεκεμβρίου 2002, σελ.232-253.
8. Κουτή Μ., Κατημερτζόγλου Ι.,(2010). Μεσογειακή διατροφή- Η διατροφή των Αρχαίων Ελλήνων (Ελλην 2010), σελ.86-89.
9. Μπίκος Θ., (1991) Όλα για το μέλι. Έκδοση του ίδιου,σελ.263-270.
10. Νικολόπουλος Α., Τεντολούρης Ν., Κωστάκη Μ., Κατσιλάμπρος Ν.,(2006).Λοιμώξεις στο διαβητικό πόδι. Archives of Hellenic Medicine 23(3),σελ.222-232.
11. Σταθόπουλος Κ.,(1993). Υγιεινή και διατροφική αξία του μελιού. Πρακτικά εκδήλωσης της επιτροπής προώθησης του Ελληνικού μελιού. Αθήνα.

12. ΥΠΑΑΤ-Πληροφορίες για τη μελισσοκομία.  
<http://www.minagric.gr/greek/2.8.5.html>
13. Υφαντίδης Δ. Μιχαήλ(2005).Η σύγχρονη μελισσοκομία ως επιστήμη και πράξη,σελ.505-515.
14. Χαριζάνης Π.,(1989).Ευκάλυπτος, το δέντρο που υπόσχεται πολλά στη μελισσοκομία. Μελισσοκομική Επιθεώρηση 3(3),σελ.69-71.
15. Χαριζάνης Π.,(1996β). Ευκάλυπτος, ένα δέντρο με πολλά πλεονεκτήματα αλλά και μειονεκτήματα, Μελισσοκομική Επιθεώρηση 10(12),σελ.487-489.

### Ξενογλώσση

1. Adams CJ, Manley-Harris M, Molan PC(2009). The origin of methylglyoxal in New Zealand *manuka* (*Leptospermum scoparium*) honey.Carbohydr Res 344:1050-1053.
2. Adesunkanmi, K.,Oyelami, O.A.(1994) . The patern and outcome of burn injuries at Wesley Guild Hospital, Ilesha, Nigeria:a review of 156 cases. Journal og Tropical Medicine and Hygiene 97(2):108-112.
3. Alandejani, T., Marsan, J., Ferris, W., Slinger, R. and Chan, F.(2009). Effectiveness of honey on *Staphylococcus aureus* *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Otolaryngol. Head Neck Surg. 141,114-118.
4. Allen KL, Molan PC, Reid GM (1991). A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. J Pharm Pharmacol 43: 817-822.
5. Anthimidou, E. and Mossialos, D.(2012). Antibacterial Activity of Greek and Cypriot Honeys against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Comparison to *Manuka* Honey. Journal of Medicine Food 16(1), 42-47.
6. Carnwarth, R., Graham, E., Reynolds, K and Pollock, P.,(2013). The antimicrobial activity of honey against common equine wound bacterial isolates.
7. Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downers FP, Shah S, Rudrik JT, Pupp GR, Brown WJ, Cardo D, Fridkin SK. Vankomycin Resistant *Staphylococcys aureus* Investigative Team. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the van A resistance gene. N Engl J Med. 2003;348:1342-1347.

8. Cooper RA and Molan PC, 1999. The use of honey as an antiseptic in managing *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Wound Care* 8 (4) 161-164.
9. Cooper, R., Molan, P. and Harding, K. (2002). The sensitivity of honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *Journal of Applied Microbiology* 93, 857-863.
10. Crane, E., (1999), The traditional hive products: honey and beeswax, Chapter 13, pp:388-451. In: *Bees and Beekeeping* (Ed. By E. Crane).
11. Dustmann J.H, 1979 Antibacterial effect of honey. *Apiacta* 14.
12. Effem, S. (1988). Clinical observations on the wound healing dressing with pure natural honey. *British Journal of Surgery* 75, 679-681.
13. Herold B.C.(1970), *Heilwerte aus dem Bienenvolk*, Θεραπευτικές αξίες από το μελίσσι Munchen.
14. Herold B.C., L.C.Immergluck, M.C. Maranan, D.S. Lauderdale, R.E. Gaskin, S. Boyle-Vavra, C.D. Leitch, R.S. Daum(1998), Community-acquired methicilin resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk *JAMA*, 279pp.593-598.
15. Hiramitsu K. (1995), Molecular evolution of MRSA. *Microbiol Immunol*; 39:531-543.
16. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, et al. 92007) Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*. ; 298(15):1763-1771.French.
17. Kwakman, P., te Velde, A., de Boer, L., Speijer, D., Vandenbroucke-Grauls, C. and Zaat, S.(2010). How honey kills bacteria. *The FASEB Journal* 24(7), 2576-2582.
18. Mavric E, Wittmann S, Barth G, Henle T.(2008). Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of *Manuka*.(*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol Nutr Food Res* 52: 483-489.
19. Molan P (1992), The antibacterial nature of honey . 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee World*, 73(1):5-28.
20. Molan P (1998), A brief review of the use as a clinical dressing. *Australian J of Management*; 6:148-158

21. Molan P.C.(1999a), The role of honey in the management of wounds. *Journal of Wound Care* 8(8):423-426
22. Molan, P.C. (1999b), Why honey is effective as a medicine. 1. Its use in modern medicine. *Bee World* 80(2):80-92.
23. Mundo, M.A., Padilla-Zakour, O.I., Worobo, R.W.(2004), Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *International Journal of Food Microbiology* 97,1-8.
24. Naimi T.S., K.H. LeDell, K. Como-Sabetti, S.M. Borchardt, D.T. Boxrud, J. Etienne, S.K. Johnson, F. Vandenesch, S. Fridkin, C. O'Boyle et al. (2003), Comparison of community-and health care-associated methicillin –resistant *Staphylococcus aureus* infection *JAMA*, 290 pp.2976-2984.
25. Ndayisaba, G., Bazira, L., Habonimana, E., Muteganya, D.(1993), Clinical and bacteriological results in wound treated with honey. *Journal of Orthopedic Surgery* 7(2): 202-204.
26. Olaitan, P., Adeleke, O. and Ola, I. (2007). Honey: A reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences* 7(3), 159-165.
27. Otto M.(2010), Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* *Annu Rev Microbiol*, 64 pp. 143-162.
28. Santas L. (1983), Insects producing honeydew exploited by bees in Greece. *Apidologie* 14(2):93-103.
29. Seeley T.D.(1985) Honeybee ecology. Princeton University Press, USA.
30. Sherlock, O., Dolan, A., Athman, R., Power, A., Gethin, G., Cowman, S. and Humphreys, H. (2010). Comparison of the antimicrobial activity of Ulmo honey from Chile and Manuka honey against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Complementary and Alternative Medicine* 10 (47),1-5.
31. Wang, R., Starkey, M., Hazan, R. and Rahme, L.(2012). Honey's ability to counter bacterial infections arises from bactericidal compounds and QS inhibition. *Frontiers in Microbiology* 3(144), 1-8.
32. Weston, R. (2000). The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chemistry* 71(2). 235-239.

33. White J.W.Jr.(1993), Honey, in the hive and the honey bee, Dadant and Sons Publication Hamilton-Illinois p.p.869-895.
34. Zanber E., Maurizio A.(1984), Der Honig ulmer Verlag Stuttgart.
35. Zumla and Lulat(1989),Honey- a remedy rediscovered,Journal og the Royal Society of Medicine 82, 384-385.

### **Λιαδίκτυο**

- 1.<http://en.wikipedia.org>
- 2.<http://www.textbookofbacteriology.net>
- 3.<http://microbewiki.kenyon.edu/>
- 4.<http://www.cdc.gov>
- 5.<http://15minutes.gr>
- 6.<http://www.herb.gr>
- 7.<http://www.paragogi.net>
- 8.<http://agrosimvoulos.gr/kallirgeia.kastania>
- 9.<http://vip-newshellas.gr>
- 10.<http://evritaniki.gr>
- 11.<http://energypress.gr>
- 12.<http://laconialive.gr>
- 13.<http://diatrifikaiygeia.blogspot.gr>
- 14.<http://www.hhmglobal.com> .